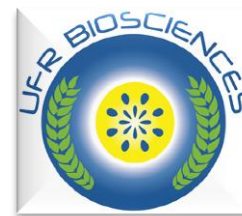




REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE
Union-Discipline-Travail

Ministère de l'Enseignement supérieur
et de la Recherche Scientifique



Laboratoire de
Physiologie Végétale

Année Universitaire
2013-2014

THESE

Présentée pour l'obtention du Titre de Docteur de
l'Université Félix HOUPHOUËT- BOIGNY

Spécialité : Phytovirologie

Numéro d'ordre
858 / 2014

M. KOUAKOU Koffié

DIVERSITÉ MOLECULAIRE DU CSSV
(Cocoa swollen shoot virus) ET ÉPIDÉMIOLOGIE DE
LA MALADIE DU SWOLLEN SHOOT
DU CACAOYER (*Theobroma cacao* L.)
EN CÔTE D'IVOIRE

Commission du jury

Soutenu publiquement
le jeudi, 13 mars 2014

M. ZOZOU Michel	Professeur Titulaire	UFHB	Président
M. AKE Séverin	Professeur Titulaire	UFHB	Directeur
M. KEBE Boubacar Ismaël	Directeur de Recherche	CNRA	1 ^{er} Co-directeur
M ^{me} MULLER Emmanuelle	Chercheur	CIRAD	2 ^e Co-directeur
M. ZEZE Adolphe	Maître de Conférences	ESA	Rapporteur
M. KONE Daouda	Professeur Titulaire	UFHB	Rapporteur



DEDICACE

A la mémoire de nos disparus :

mon père KOUAKOU Kouman (1923-2009),
Baba Souleymane OUATTARA qui m'a permis de connaître l'école,
Mes frères Kouassi Kouman et Yao Gboko.
Nous ne vous oublierons jamais.

A ma mère Yaoua Frouman,

Merci pour tous les sacrifices consentis durant cette difficile et longue attente.

Aux enfants de mon cousin ADOUBRYN Koffi Daho :

Noël, Ephraïm et Séphira.

Papa nous a enseigné le sens des valeurs fondamentales de la vie :
travail bien fait, pardon, amour du prochain, entraide, confiance en
soi, humilité, faire face à ses responsabilités et patience.
Je resterai toujours disponible.

A ma fiancée Kossonou Hélène.

Merci pour ta disponibilité, ton soutien et ta compréhension.

A l'avenir de mon fils Kobenan Lucas

AVANT-PROPOS

Cette étude se situe dans la continuité des travaux effectués dans le cadre de mon stage de DEA au CNRA en 2004/2006 sur l'épidémiologie de la maladie du swollen shoot du cacaoyer à Sinfra en Côte d'Ivoire. Elle s'inscrit dans le volet « Etude de l'agent pathogène et du vecteur » du projet « Lutte contre le swollen shoot du cacaoyer en Côte d'Ivoire ». Ce projet financé par la filière cacao ivoirienne à travers le FIRCA a été conduit par le CNRA de 2008 à 2011. Au cours de ces travaux, nous avons réalisé les analyses moléculaires au sein de l'équipe "détection, variabilité et expression des *Badnavirus* endogènes et exogènes" de l'UMR-BGPI (Unité Mixte de Recherche en Biologie et Génétique des Interactions Plante-parasite) du CIRAD (Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement) de Montpellier en France.

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier sincèrement les membres du jury d'avoir accepté de siéger pour l'évaluation finale de ma thèse de doctorat. Je remercie particulièrement le Professeur ZOZOU Michel de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan Cocody (UFHB) qui a accepté de présider ce jury mais surtout pour sa très grande disponibilité au cours des démarches administratives pour la soutenance malgré ses nombreuses charges professionnelles. J'exprime ma gratitude au Professeur KONE Daouda (UFHB) et au Professeur ZEZE Adolphe de l'Institut National Polytechnique Houphouët Boigny à Yamoussoukro (INP-HB), tous deux Rapporteurs de cette thèse, pour leur importante contribution qui a permis un avis favorable de la commission scientifique de l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) de Biosciences.

J'exprime ma très vive reconnaissance au Professeur AKE Séverin, Directeur de cette thèse à l'UFR Biosciences de l'UFHB. Tout a commencé lorsque vous avez accepté de me recommander au Centre National de Recherche Agronomique (CNRA) pour une thèse sur le swollen shoot pendant la difficile période de recherche de sujet de thèse après le DEA. Vous n'avez jamais cessé de m'écouter, de m'encourager et de m'orienter. Vous vous êtes personnellement investi à plusieurs reprises pour rencontrer et discuter avec chacun des acteurs scientifiques de mon encadrement pour le bon déroulement de mes travaux. Malgré un calendrier professionnel toujours très chargé, vous avez, à chaque fois, apporté votre touche à chacune des mes propositions manuscrites et vos remarques et suggestions ont hautement contribué à l'amélioration de ce document. Sincères remerciements au Professeur AKE.

J'exprime ma gratitude à la Direction scientifique du CNRA notamment à Dr ZAKRA Nicodème, Directeur de la Recherche Scientifique et de l'Appui au Développement (DRSAD) et Dr ADIKO Amoncho (Conseiller du Directeur Général du CNRA) pour m'avoir accordé leur confiance et pour leur soutien.

Dr KEBE Boubacar Ismaël, Responsable du Département Culture Pérenne à la Direction Générale du CNRA et Co-directeur de cette thèse, a accepté de poursuivre le travail entrepris avec moi depuis 2004 dans le cadre de mon DEA. Il a su m'orienter vers plusieurs personnes ressources et surtout vers un laboratoire d'accueil de pointe appartenant à l'une des rares Unités Mixtes de Recherche (UMR) certifiées ISO 9001(n°QUAL/2007/28955) de France. Sa rigueur scientifique, ses conseils constructifs et sa générosité m'ont donné confiance et m'ont permis à un moment donné de résister à l'abandon. Sa contribution scientifique m'a été

très bénéfique dans le choix de notre approche méthodologique et dans l'interprétation des résultats. Pendant les douze difficiles premiers mois de mon stage à Divo, Il m'a offert un logement à son domicile et n'a cessé de m'encourager. Infiniment merci à Dr KEBE.

Dr KOUASSI Nazaire, Directeur du Laboratoire Central de Biotechnologie (LCB) du CNRA, m'a initié aux techniques de base de la biologie moléculaire lors des préparatifs de mon stage au CIRAD. Il était avec moi au CIRAD pour le renforcement des capacités des Chercheurs du CNRA. Avec lui, nous avons effectué les premières analyses moléculaires des échantillons de feuilles de cacaoyers virosées provenant de Côte d'Ivoire. J'ai bénéficié de son expérience au laboratoire, de ses conseils scientifiques constructifs, de ses encouragements et de sa gentillesse. Il a accepté de relire ce manuscrit. J'exprime ma très vive reconnaissance à Dr KOUASSI Nazaire.

Je remercie Dr CAMARA Maméri, Directeur Régional du CNRA-Gagnoa pour ses encouragements, ses conseils et pour m'avoir orienté dans mes démarches d'intégration au CNRA. Je n'oublie pas MM ACHAYE Ludovic et CISSE Adou, respectivement Directeur de station à Gagnoa et à Divo pour la programmation judicieuse de mes missions de collecte de données sur le terrain. J'exprime ma reconnaissance à tout le personnel de la station CNRA de Divo. Je dis particulièrement merci à Dr N'GUESSAN K. François et M. LEGNATE Hyacinthe respectivement Chef de Programme cacao et Café-cola mais surtout à l'ensemble des chercheurs notamment MM. TAHI Mathias, ASSIRI Alexis, KOKO Louis, AMANI Konan, N'GUESSAN W. Pierre, AKA Romain, YAPO Antoine pour leurs conseils, leurs critiques constructives et leur soutien. J'exprime ma gratitude à M. SEKOU Aïdara, Chercheur au programme café-cola pour son appui au choix du dispositif de mise en place des essais et à l'analyse statistique des données épidémiologiques. Je n'oublie pas l'ensemble des chauffeurs de la station de Divo qui nous ont accompagnés sur les pistes des cacaoyères dans une sécurité précaire et qui pour la plupart du temps nous apportaient un coup de main au cours de l'enregistrement des données sur le terrain.

Je remercie le Professeur Abdourahamane SANGARE pour avoir accepté de relire et corriger mon projet de thèse et toute l'équipe du LCB pour la formation sur les techniques de base de la biologie moléculaire. Je dis particulièrement merci à Dr POKOU Désiré, Chef de programme Biotechnologie, pour ses conseils avisés et ses encouragements. J'exprime également ma profonde gratitude au Professeur KONE Daouda à l'UFR Biosciences qui n'a cessé de m'encourager et a accepté de relire ce manuscrit. Je remercie Dr ABO Kouabenan à l'INP-HB de Yamoussoukro pour ses conseils et sa disponibilité. Je n'oublie pas tous les

cacaoculteurs des zones visitées et l'ensemble des partenaires du CNRA impliqués dans ce projet notamment le FDPCC, le FIRCA, l'ANADER, l'ENSEA, et le BNETD/CCT.

Je remercie sincèrement le CIRAD de Montpellier pour son soutien logistique et financier dans le cadre de son programme d'appui aux doctorants 2010 et 2011. Je remercie les Responsables du BGPI notamment Dr Marie-line CARUANA pour l'attention particulière dont j'ai bénéficié au sein de leur prestigieuse unité de recherche mais surtout pour leurs conseils.

La formation scientifique reçue au CIRAD de Baillarguet a été enrichissante et agréable grâce à la sympathie, à la simplicité mais surtout à la rigueur scientifique de Dr Emmanuelle MULLER, Co-directeur de cette thèse. Elle a effectué un suivi quotidien de mes travaux au laboratoire et a accepté de relire toutes mes propositions manuscrites et de me faire des remarques judicieuses. Sa grande expérience au laboratoire et en analyse phylogénétique m'a été très bénéfique dans la conduite de mes manipulations au laboratoire et dans l'analyse et l'interprétation des données moléculaires. Par sa grande gentillesse, elle n'a cessé de m'encourager. Infiniment merci à Dr Muller. Je n'oublie pas toute l'équipe du labo 11 du BGPI pour m'avoir initié aux techniques de base de la virologie moléculaire. Je dis particulièrement merci à Matthieu CHABANNES, Nathalie LABOUREAU, Laurence BLONDIN, Serge GALZI et Dominique LAGRENEE. Je remercie très sincèrement MM. Christian CILAS, Denis FARGETTE, Philippe ROUMAGNAC, et Bernard DUFOUR pour leurs conseils avisés, leurs encouragements et pour la documentation. J'exprime ma grande gratitude à Gaël THEBAUD d'avoir accepté de relire ce document, pour ses conseils constructifs et pour son amitié. Je dis également merci à David PLEYDELL, Frank ORO et à la famille de Dr MULLER notamment Dominique, Mathias, Esther et Paul pour leur amitié. Je remercie toute la communauté ivoirienne de Montpellier notamment le « village Ivoire ».

Je remercie les membres du CEDAM (cercle des amis) pour leur soutien, les familles de Maître TAN Koffi, de KOSSONOU Sébastien et de KOUAME Jean-Baptiste à Divo pour leur gentillesse et leur encouragement. J'exprime ma gratitude à Dr KOUMAN Gabriel pour ses conseils de sage qui ont facilité mon choix après mon diplôme de Maîtrise. Je n'oublie pas toute ma famille pour les sacrifices consentis durant cette longue attente et ainsi que toutes les personnes qui m'ont soutenu d'une façon ou d'une autre et dont les noms ne sont pas inscrits ici.

Enfin, je dis merci à DIEU de m'avoir accordé sa grâce.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	II
AVANT-PROPOS	IV
REMERCIEMENTS.....	IV
TABLE DES MATIERES	VII
LISTE DES ABREVIATIONS	X
LISTE DES FIGURES.....	XI
LISTE DES TABLEAUX	XII
INTRODUCTION GENERALE	1
PREMIERE PARTIE REVUE BIBLIOGRAPHIQUE.....	5
CHAPITRE I. GENERALITES SUR LE CACAOYER.....	6
1.1 BOTANIQUE DU CACAOYER.....	6
1.1.1 Origine, distribution et importance socio-économique	6
1.1.2 Morphologie et biologie du cacaoyer	7
1.1.3 Populations de cacaoyers cultivés	9
1.1.4 Ecologie et physiologie du cacaoyer	9
1.1.5 Amélioration génétique et sélection du cacaoyer	10
1.1.6 Méthodes culturales et itinéraires techniques du cacaoyer.....	10
1.2. MALADIES ET AUTRES PARASITES DU CACAOYER.....	12
1.2.1 Principales maladies du cacaoyer	12
1.2.2 Autres agents biotiques du cacaoyer	15
CHAPITRE II. LA MALADIE DU SWOLLEN SHOOT DU CACAOYER.....	19
2.1 DESCRIPTION DE LA MALADIE.....	19
2.1.1 Origine du swollen shoot.....	19
2.1.2 Importance du swollen shoot.....	19
2.1.3 Différentes formes de la maladie	20
2.1.4 Propagation de la maladie du swollen shoot	21
2.1.5 Lutte contre la maladie du swollen shoot	21
2.2 CARACTERISTIQUES DU CSSV	25
2.2.1 Transmission du CSSV.....	25
2.2.2 Les plantes hôtes du CSSV.....	29

2.2.3 Isolement du CSSV	30
2.2.4 Classification et description du CSSV.....	30
2.2.5 Méthodes de détection du CSSV	31
CHAPITRE III. MILIEU DE L'ETUDE.....	35
3.1 GEOGRAPHIE DE LA COTE D'IVOIRE	35
3.2 ZONES D'ECHANTILLONNAGE	35
3.3 SITES DES ESSAIS EPIDEMIOLOGIQUES ET SERRE EXPERIMENTALE	36
DEUXIEME PARTIE MATERIEL ET METHODES	39
CHAPITRE IV : MATERIEL	40
4.1. MATERIEL VEGETAL	40
4.1.1 Matériel végétal en milieu paysan	40
4.1.2 Matériel végétal utilisé en serre.....	40
4.2. MATERIEL TECHNIQUE ET LOGICIELS	41
4.2.1 Matériel technique	41
4.2.2 Logiciels d'analyse	41
CHAPITRE V : METHODES	43
5.1. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DU SWOLLEN SHOOT.....	43
5.1.1 Caractérisation de la maladie au champ	43
5.1.2 Evaluation des dégâts	44
5.1.3 Détermination de l'impact de la maladie sur la production de cacao.....	44
5.2. DETECTION ET ETUDE DE LA DIVERSITE DU <i>Cocoa swollen shoot virus</i>	48
5.2.1 Détection du virus.....	48
5.2.2. Caractérisation de la diversité moléculaire du CSSV.....	50
5.2.3. Etablissement de la distribution géographique des isolats du CSSV	52
TROISIEME PARTIE: RESULTATS	54
CHAPITRE VI : EPIDEMIOLOGIE DU SWOLLEN SHOOT	55
6.1. ASPECTS SYMPTOMATIQUES DU SWOLLEN SHOOT.....	55
6.1.1 Symptômes foliaires	55
6.1.2 Symptômes axillaires.....	56
6.1.3 Symptômes sur cabosses	56
6.1.4 Symptômes sur racines de cacaoyers.....	56

6.1. 5 Morphologie des cacaoyers symptomatiques au champ.....	57
6.1. 6 Particularités symptomatiques du swollen shoot.....	63
6.2 DEGATS DU SWOLLEN SHOOT	66
6.2.1 Taux de mortalité des cacaoyers.....	66
6.2.2 Prévalence du swollen shoot.....	66
6.2.3 Incidence du swollen shoot.....	69
6.3 IMPACT DU SWOLLEN SHOOT SUR LA PRODUCTION ET LA QUALITE DES FEVES .	74
6.3.1 Influence du swollen shoot sur la production de cabosses	74
6.3.2 Influence du swollen shoot sur la qualité des fèves.....	79
6.3.3 Estimation des pertes de production de cacao au champ.....	87
Conclusion partielle.....	88
CHAPITRE VII : DETECTION ET DIVERSITE DU Cocoa swollen shoot virus	89
7.1. DETECTION DU Cocoa swollen shoot virus PAR PCR	89
7.1.1 Efficacité du couple d’amorces ORF3CSSV F/R pour la détection du CSSV.....	89
7.1.2 Mise au point des nouvelles amorces ORF3A-F/R pour la détection du CSSV	90
7.1.3 Efficacité des nouvelles amorces ORF3A-F/R pour la détection du CSSV.....	90
7.2. DIVERSITE MOLECULAIRE DU Cocoa swollen shoot virus	94
7.2.1 Structures phylogénétiques des premières séquences partielles ORF3 du CSSV	94
7.2.2 Structures phylogénétiques de l’ensemble des séquences partielles ORF3 obtenues .	98
7.2.3 Relations entre les isolats du CSSV et les manifestations de la maladie au champ ..	101
7.3 DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DE LA VARIABILITE MOLECULAIRE DU CSSV	105
7.3.1 Distribution géographique des isolats du CSSV.....	105
7.3.2 Isolats du CSSV conservés en serre	105
Conclusion partielle.....	109
QUATRIEME PARTIE: DISCUSSION.....	110
EPIDEMIOLOGIE DU SWOLLEN SHOOT.....	111
DIVERSITE DU <i>Cocoa swollen shoot virus</i>	114
CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES.....	118
RECOMMANDATIONS.....	121
REFERENCES	125
ANNEXES.....	135
TAXONS CITES	139

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN:	Acide désoxyribonucléique
AMI:	Area of mass infection
ANADER:	Agence national d'appui au développement rural
ARN:	Acide ribonucléique
ASO:	Area of scattered outbreak
BET:	Bromure d'éthidium
BNETD	Bureau national d'étude technique et de développement
CIAA	Chloroforme/Alcool isoamylique
CIRAD	Centre de coopération international en recherche agronomique pour le développement
CNRA	Centre national de recherche agronomique
DDT:	Dichloro-diphenyl-trichloroethane
dNTP	désoxy-ribonucleotides triphosphates
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
ENSEA	Ecole nationale de statistique et d'économie appliquée
FDPCC	Fonds de développement et de promotion des activités des producteurs de café et cacao
FIRCA	Fonds interprofessionnel pour la recherche et le conseil agricole
FAO	Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
GPS	Global positioning system
ICTV	International committee on taxonomy of viruses
KDa	Kilodalton
Kpb	Kilo paire de bases
Pb	paire de bases
MATAB	Mixed Alkyltrimethylamonium Bromide
ME	Microscopie électronique
MgCl ₂	Chlorure de magnésium
ORF	Open reading frame
OTU	Unité taxonomique
PCR	Polymerase chain reaction
PEG	Polyéthylène glycol
TAE	Tris-acétate EDTA

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition des zones de production de cacao	8
Figure 2 : Cacaoyer en production à la station de recherche de Divo, Côte d'Ivoire.	11
Figure 3 : Principales formes de cabosses.....	11
Figure 4 : Cabosses atteintes de pourriture brune sur cacaoyer	13
Figure 5 : Dégâts de la maladie du swollen shoot.....	16
Figure 6 : Dégâts de mirides sur cabosses de cacaoyer.....	18
Figure 7 : Attaque de loranthus sur branches de cacaoyer	18
Figure 8 : Répartition des foyers de swollen shoot en Côte d'Ivoire entre 1940 et 1960	22
Figure 9 : Cochenilles associées à des fourmis	28
Figure 10 : Le génome du CSSV	33
Figure 11 : Zones de l'étude.....	37
Figure 12 : Symptômes de bandes rouges du swollen shoot sur jeunes feuilles de cacaoyer ..	42
Figure 13: Schéma montrant la disposition des arbres marqués par rapport au foyer.	46
Figure 14 : Localisation de la zone d'accrochage des amorces sur le génome du CSSV.....	51
Figure 15 : Plants de cacaoyers greffés en serre à Bouaflé (Côte d'Ivoire).....	53
Figure 16 : Principaux symptômes foliaires de la maladie du swollen shoot du cacaoyer	58
Figure 17 : Autres symptômes foliaires de la maladie du swollen shoot du cacaoyer.....	59
Figure 18 : Symptômes de swollen shoot sur tiges de cacaoyer	60
Figure 19 : Symptôme de swollen shoot sur cabosse de cacaoyer.....	60
Figure 20 : Comparaison entre fèves issues asymptomatiques et fèves symptomatiques	61
Figure 21 : Différents types de marbrures sur le cortex de cabosses	61
Figure 22 : Symptômes de gonflements sur racines de cacaoyers.	62
Figure 23 : Foyer de swollen shoot à Grand-Zattry (Côte d'Ivoire).	64
Figure 24 : Taux moyen de cacaoyers morts par foyer	68
Figure 25 : Cacaoyers morts dans des parcelles atteintes du swollen shoot en Côte d'Ivoire. 71	
Figure 26 : Proportion de cacaoyers symptomatiques en fonction de leur distance au foyer ..	73
Figure 27 : Nombre moyen de cabosses sur les cacaoyers.....	76
Figure 28 : Poids moyen de cabosses sur les cacaoyers.....	78
Figure 29 : Volume moyen de cabosses sur les cacaoyers autour des foyers	81
Figure 30 : Poids moyen de 100 fèves de cacao par cacaoyers.....	84
Figure 31 : Nombre moyen de fèves de cacao défectueuses par cabosse	86
Figure 32 : Résultat de détection PCR du virus du swollen shoot sur gel d'agarose 1%.	91
Figure 33: Arbre phylogénétique neighbour-joining	96
Figure 34: Arbre phylogénétique neighbour-joining	97
Figure 35: Arbre phylogénétique construit par la méthode de maximum de vraisemblance. 100	
Figure 36 : Répartition spatiale des groupes d'isolats de CSSV en Côte d'Ivoire.....	106
Figure 37 : Symptômes de swollen shoot sur de jeunes cacaoyers en serre	107
Figure 38 : Arbre phylogénétique Neighbor-Joining des isolats de CSSV en serre	108

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Résultats de l'enquête de recensement des foyers de swollen shoot	26
Tableau II : Localisation des sites de l'étude épidémiologique du swollen shoot	38
Tableau III : Superficies des essais et densités de plantation.....	47
Tableau IV: Caractéristiques des couples d'amorces ORF3CSSV F/R et ORF3A	51
Tableau V : Tableau récapitulatif des symptômes du swollen shoot	65
Tableau VI : Taux de mortalité et nombre de cacaoyers morts dans les foyers.....	67
Tableau VII : Taux de prévalence du swollen shoot du cacaoyer.....	70
Tableau VIII : Taux d'incidence du swollen shoot dans quelques localités en Côte d'Ivoire.	72
Tableau IX : Répartition des cacaoyers malades autour du foyer	72
Tableau X : Nombre de cabosses sur les cacaoyers par localité	75
Tableau XI : Pourcentage de réduction du nombre de cabosses sur les cacaoyers	76
Tableau XII : Poids de cabosses de cacaoyers par localité et par secteur autour du foyer	77
Tableau XIII : Réduction du poids des cabosses de cacaoyers par le swollen shoot	78
Tableau XIV : Volume calculé des cabosses de cacaoyer	80
Tableau XV : Réduction du volume de cabosses de cacaoyer par le swollen shoot.....	81
Tableau XVI : Poids de 100 fèves de cacao par localité et par secteur autour du foyer	82
Tableau XVII : Réduction du poids de 100 fèves fraîches de cacao.....	83
Tableau XVIII : Nombre de fèves de cacao défectueuses dans les cabosses.....	85
Tableau XIX : Effectifs des échantillons détectés avec les amorces ORF3CSSV F/R.....	92
Tableau XX : Effectifs des parcelles détectées avec le couple d'amorces ORF3CSSV-F/R ..	92
Tableau XXI: Effectifs des échantillons détectés avec le couple d'amorces ORF3A F/R	93
Tableau XXII: Effectifs des parcelles détectées avec le couple d'amorces ORF3A-F/R	93
Tableau XXIII : Indice d'identité entre des séquences partielles ORF3	95
Tableau XXIV : Indice d'identité entre des séquences partielles ORF3.....	99
Tableau XXV : Relations entre isolats de CSSV et symptômes de swollen shoot au champ	101
Tableau XXVI : Relations entre isolats de CSSV et dégâts du swollen shoot au champ.	103
Tableau XXVII : Relations entre isolats de CSSV et influence du swollen shoot au champ.	104

INTRODUCTION GENERALE

La Côte d'Ivoire fournit environ 40 % de l'offre mondiale en fèves de cacao (Anonyme, 2007) et occupe, depuis plus de trente ans, le premier rang parmi la cinquantaine de pays producteurs (Anonyme, 2011). Cette importante production de cacao contribue à plus de 10 % du PIB ivoirien (Anonyme, 2004) et constitue la principale source de revenu de milliers de petits planteurs en milieu rural. Actuellement, le cacao représente à lui seul 30 % des produits d'exportation ivoiriens et apporte de ce fait un important soutien économique à l'Etat de Côte d'Ivoire.

Toutefois, ces importants acquis socio-économiques liés à la production du cacao en Côte d'Ivoire ne doivent pas faire perdre de vue les nombreuses contraintes de production de cacao capables d'engendrer une baisse significative de la production ivoirienne et d'accentuer la pauvreté en milieu rural. D'une manière générale, les principales contraintes de la production de cacao en Côte d'Ivoire peuvent être classées en deux catégories selon leur origine. Ce sont d'une part, les contraintes abiotiques caractérisées par les fluctuations des prix du marché et la rareté des forêts (Freud *et al.*, 2000) et d'autre part, les contraintes biotiques marquées par l'action des maladies et des insectes ravageurs du cacaoyer. En Côte d'Ivoire, la pourriture brune des cabosses due à *Phytophthora* spp. et les mirides (*Sahlbergella singularis* et *Distantiella theobromae*) constituent les bioagresseurs du cacaoyer les plus importants au regard des dégâts causés. En réponse à ces agresseurs biologiques, une méthode de lutte intégrée, respectueuse de l'environnement et centrée sur la sélection variétale, permet de limiter raisonnablement leur action (Kebé *et al.*, 2005 ; Tahi *et al.*, 2006 ; Assiri, 2006). Cependant, la réapparition de la maladie virale du swollen shoot du cacaoyer en 2003 dans le verger ivoirien (Kébé et N'guessan, 2003) après 60 ans, constitue une nouvelle menace pour la cacaoculture en Côte d'Ivoire.

Le swollen shoot du cacaoyer constitue l'une des maladies virales de plantes dont les conséquences économiques sont les plus importantes dans le monde (Dzahini-Obiatey *et al.*, 2010). Cette maladie a été découverte pour la première fois au Ghana en 1936 (Steven, 1936). Par la suite, le swollen shoot a été observé dans plusieurs autres pays aussi bien de l'Afrique de l'Ouest notamment le Nigeria (Murray, 1945), la Côte d'Ivoire (Alibert, 1946), la Sierra Léone (Attafuah *et al.*, 1963) et le Togo (Partiot *et al.*, 1978) que dans les îles Caraïbes (Trinidad) Posnette, (1943) et en Asie précisément en Malaisie (Lui, 1979) et au Sri-Lanka (Thresh, 1958a). Cette maladie semble endémique en Afrique de l'Ouest car les foyers de

Trinidad et de l'Asie n'ont pas été confirmés jusqu'à présent (Lockhart et Sackey, 2001 ; Vos *et al.*, 2003). La maladie provoque des symptômes caractéristiques de rougissements de nervures et de mosaïques sur les feuilles mais surtout de gonflements des rameaux et des racines. Dans sa forme la plus sévère, le swollen shoot peut tuer un cacaoyer atteint en moins de trois ans (Partiot *et al.*, 1978). Toutefois, des formes atténuées de la maladie ont été rapportées (Ollennu et Owusu, 2003). Il existe des plantes-hôtes qui hébergeraient naturellement le virus notamment *Cola chlamydanthia* K. Schum, *Adansonia digitata* L. et *Ceiba pentandra* (L) Gaerth (Posnette *et al.*, 1950 ; Tinsley et Wharton 1958 ; Legg et Bonny, 1967 ; Thresh, 1991). Le CSSV (*Cocoa swollen shoot virus*) est le virus responsable de la maladie du swollen shoot (Wiltshire 1946). Ce virus appartient au genre *Badnavirus* (famille des *Caulimoviridae*) et mesure 121 à 130 nm de long sur 28 nm de large avec une capside bacilliforme non enveloppée (Lockhart, 1990). Le génome du CSSV est circulaire et présente un ADN double brin de 7,2 kpb (Lot *et al.*, 1991). Ce génome possède cinq ORFs sur son brin positif (Hagen *et al.*, 1993). Contrairement au Togo où la diversité du virus semble suffisamment avoir été explorée (Hagen *et al.*, 1993 ; Muller *et al.*, 2001 ; Muller et Sackey, 2005 ; Oro *et al.*, 2011) et permis d'identifier trois phylogroupes (A, B et C) du virus (Muller, 2008), les isolats du Ghana sont peu connus (Dufour *et al.*, 1987; Muller et Sackey, 2005) tandis qu'aucune donnée moléculaire n'est disponible sur les isolats du CSSV en Côte d'Ivoire. La transmission du virus dans la nature se fait par l'intermédiaire de petits insectes piqueur-suceurs appelés cochenilles selon un mode semi-persistant. *Formicoccus njalensis* (Laing) a été décrit comme la cochenille la plus efficace dans la transmission du virus (Cotterell, 1943 ; Alibert, 1951 ; Entwistle, 1972 ; Roivainen, 1976 ; Dufour, 1987; Dufour *et al.*, 1993). L'épidémiologie de la maladie au Ghana et au Nigéria a relevé un modèle de propagation radiale suivi de l'établissement de foyers satellites fusionnant pour aboutir à une zone d'infection massive (Thresh, 1958a). Le nombre de cacaoyers infectés autour des foyers augmente lorsque le diamètre du foyer s'agrandit (Thresh et Lister, 1960; Ollennu *et al.*, 1989a; Dzahini-Obiatay *et al.*, 2006). Plusieurs méthodes de lutte ont été appliquées contre le swollen shoot sans pouvoir l'éradiquer totalement en Afrique de l'Ouest. Il s'agit notamment de la méthode de l'arrachage (Thresh, 1958b ; Ollennu *et al.*, 1989b), la lutte chimique et biologique contre les vecteurs (Alibert, 1951 ; Entwistle, 1958), la prémunition (Ollennu *et al.*, 1996), l'utilisation de cordon sanitaire et de cultures de barrières (Ollennu et Owusu, 2002 ; Fofie *et al.*, 2003), et la sélection de variétés résistantes (Adu-Ampomah *et al.*, 1994 ; Adu-Ampomah *et al.*, 2003 ; Dogbé *et al.*, 2006). La maladie prévaut toujours au Ghana malgré plus de 200 millions de cacaoyers arrachés (Dzahini-Obiatay, 2010), au Nigeria (Dongo et

Orisajo, 2007), au Togo (Tsatsu et Bekou, 2003) et surtout en Côte d'Ivoire où de nouveaux foyers ont été signalés dans des zones jusque-là indemnes du virus (Kébé et Nguessan, 2003). L'équilibre qui s'était installé dans les années 50 après l'apparition des premiers foyers de la maladie en Côte d'Ivoire (Meiffren, 1948 ; Renaud, 1957) a été rompu.

Face à cette situation, il est important de savoir quelles sont les zones cacaoyères ivoiriennes touchées et les isolats du CSSV impliqués dans le développement de la maladie. Ainsi, une meilleure connaissance des aspects épidémiologiques de la maladie et de la diversité génétique du virus s'avère nécessaire. L'hypothèse générale de travail est qu'il est possible d'améliorer les connaissances sur la maladie du swollen shoot et l'agent pathogène par la détermination des aspects épidémiologiques de la maladie et par la caractérisation moléculaire des isolats du virus dans les principaux foyers.

L'objectif général de cette étude est de caractériser les aspects épidémiologiques du swollen shoot et la diversité moléculaire du *Cocoa swollen shoot virus* en Côte d'Ivoire.

Les objectifs spécifiques sont les suivants :

- caractériser la maladie du swollen shoot au champ par le recensement et la description des symptômes observés en zones infectées ;
- évaluer l'importance des dégâts causés au champ par le dénombrement des cacaoyers malades et l'estimation des cacaoyers morts dans les foyers ;
- déterminer l'impact de la maladie sur la production de cabosse et la qualité des fèves par comptage et par mesure des dimensions et du poids des cabosses et des fèves issues des cacaoyers autour des foyers.
- détecter le virus dans des échantillons de feuilles de cacaoyers infectés par la maladie en utilisant un diagnostic PCR ;
- caractériser la diversité moléculaire du CSSV par des analyses phylogénétiques en référence avec les groupes A, B et C déjà identifiés au Togo et au Ghana ;
- établir la distribution géographique des isolats identifiés par leur répartition en fonction des zones de collecte.

L'approche méthodologique a consisté d'abord à collecter à intervalles réguliers des données relatives aux symptômes et aux dégâts causés par la maladie dans des parcelles paysannes infectées et une analyse statistique a été réalisée. Ensuite des échantillons de feuilles de cacaoyers infectés par le virus ont été collectés dans les principaux foyers de la maladie. L'ADN total a été extrait à partir des échantillons collectés et le virus du swollen shoot y a été recherché par un diagnostic PCR dans la partie ORF3 du génome du CSSV. La séquence

partielle ORF3 des isolats amplifiés a été séquencé et une analyse phylogénétique a été effectuée en comparaison de séquences virales témoins disponibles dans les banques de données.

A terme, cette étude devrait permettre de disposer d'une base de données préliminaires afin de contribuer à l'adaptation des méthodes de lutte au contexte ivoirien.

Le plan du mémoire est le suivant : Après une introduction générale, nous présentons dans les chapitres 1, 2 et 3 une revue bibliographique portant sur la botanique du cacaoyer, les maladies et des autres parasites du cacaoyer, la maladie du swollen shoot du cacaoyer et la zone d'étude. Le chapitre 4 présente le matériel végétal et le matériel technique tandis que le chapitre 5 présente les méthodes. Les chapitres 6 et 7 présentent respectivement les résultats sur l'épidémiologie du swollen shoot et sur la diversité du CSSV. La partie discussion est suivie par les conclusions générales, les perspectives et les références bibliographiques.

PREMIERE PARTIE :
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I. GENERALITES SUR LE CACAOYER

1.1 BOTANIQUE DU CACAOYER

1.1.1 Origine, distribution et importance socio-économique

1.1.1.1 Origine et distribution du cacaoyer

Le cacaoyer, *Theobroma cacao* L. (Malvaceae) (Angiosperm phylogeny Group, 2011), est originaire de la forêt amazonienne de l'Amérique et constitue la seule espèce du genre *Theobroma* abondamment cultivée à cause de l'utilisation de ses fèves dans la fabrication du chocolat (Braudeau, 1969). Aujourd'hui, des fouilles archéologiques indiquent que le cacaoyer était domestiqué par les agriculteurs Mayas en Amérique centrale depuis au moins 2600 ans (Motamayor *et al.*, 2002). Même si l'histoire du peuple Maya est mal connue, le genre *Theobroma* (breuvage des Dieux) attribué au cacaoyer indique une origine divine de cette plante pour les Mayas. Par contre, l'histoire des Aztèques renseigne que déjà au 14^e siècle les fèves de cacao étaient utilisées dans la préparation d'une boisson appelée « xocoalt ». Le nom « chocolat » aujourd'hui mondialement adopté tire son origine de cette appellation. L'intérêt pour le cacao prend véritablement son envol lorsque les espagnols apprécièrent pour la première fois le goût du mélange « xocoalt » et sucre. Ce fut le point de départ de l'extension de la culture du cacaoyer dans la plupart des régions tropicales du monde. D'abord la culture s'est étendue en Amérique centrale, en Amérique du sud et dans les îles Caraïbes vers la fin du 16^e siècle puis en Asie au 17^e siècle. En Afrique, la cacaoculture fut introduite au Ghana vers la fin du 19^e siècle. Les premières cacaoyères furent établies en Côte d'Ivoire entre 1895 et 1905 mais l'intensification de la culture a débuté en 1912 à l'Est du pays à la frontière avec le Ghana (Burle, 1962).

1.1.1.2 Importance socio-économique de la cacaoculture

L'importance de la culture du cacaoyer repose surtout sur la fabrication et le commerce du chocolat. Le chocolat est devenu aujourd'hui une denrée très prisée sur le marché mondial et constitue par conséquent un important centre d'intérêt commercial. Les Etats-Unis sont les plus grands consommateurs du monde et absorbent entre 1 et 1,4 millions de tonnes de chocolat par an. Par ailleurs, le chocolat occupe la première place dans le commerce mondial de la confiserie estimé à plus de 80 milliards de dollars américains par année (Vos *et al.*, 2003). Le cacao fournit d'importantes recettes aux principaux pays producteurs notamment en

Afrique de l'Ouest où il constitue la principale source de revenu pour des millions de petits planteurs. L'Afrique de l'Ouest fournit plus des 2/3 de la production mondiale de cacao (Figure 1). En Côte d'Ivoire, le cacao représente, à lui seul, 30 % des produits d'exportation. En 2008, la production ivoirienne a été estimée à 1 382 000 tonnes de fèves de cacao (FAO, 2011). Sur le plan environnemental, la culture du cacaoyer permet de lutter contre l'érosion et contribue au maintien de la biodiversité et de la reconstitution du sol (Braudeau, 1969).

1.1.2 Morphologie et biologie du cacaoyer

Plusieurs auteurs dont Cuatrecasas (1964); Braudeau (1969), Lass et Wood (1989), Mossu (1990) se sont investis dans la description des aspects botanique, écologique, physiologique du cacaoyer. Il s'agit d'une plante pérenne qui se rencontre à l'état naturel dans les étages inférieurs des forêts tropicales humides de l'Amérique. Cette plante peut atteindre 12 à 15 m de hauteur à l'état sauvage. En plantation, les écartements pratiqués ne permettent à l'arbre que d'avoir une hauteur moyenne de 5 à 7 m (Figure 2). Une plantation bien conduite peut demeurer rentable au moins pendant 25 à 30 ans. Le cacaoyer est une plante diploïde avec $2n = 20$ chromosomes et essentiellement allogame. La floraison s'effectue par périodes successives qui dépendent des conditions environnementales et de l'état physiologique de la plante. Les fleurs apparaissent aussi bien sur le tronc que sur les branches du cacaoyer au niveau des coussinets floraux. Les fleurs sont hermaphrodites et possèdent un ovaire contenant 30 à 60 ovules. Un cacaoyer produit en moyenne 50 000 fleurs par an mais celles-ci ne sont pas toutes pollinisées. La pollinisation, essentiellement entomophile, est assurée par des moucheron des genres *Forcypomyia* et *Crematogaster*. Le fruit est d'abord appelé "chérelle" pendant la durée de sa croissance puis "cabosse" lorsqu'il atteint sa taille définitive. La cabosse atteint sa maturité physiologique après 5 à 6 mois selon son origine. La cabosse comprend une seule cavité dans laquelle les graines ou fèves enveloppées d'une pulpe mucilagineuse sont disposées en 5 rangées longitudinales. La cabosse peut avoir plusieurs formes dont la forme ovale régulière (type Amelonado) Figure 3. Les racines latérales sont plus importantes dans la couche superficielle du sol. La tige se développe d'abord en un axe vertical puis se forme un verticille de cinq rameaux à développement plagiotrope à partir d'environ 18 mois après semis. Ces rameaux deviendront les branches charpentières de la frondaison. Les jeunes feuilles ont une couleur variant du vert pâle plus ou moins rosé au violet foncé selon les clones de cacaoyers. A maturité, ces feuilles virent au vert foncé et acquièrent une rigidité qui leur donne un port plagiotrope. L'arbre porte toujours des feuilles d'âges différents. Le limbe est entier, simple, lancéolé et penninervé.

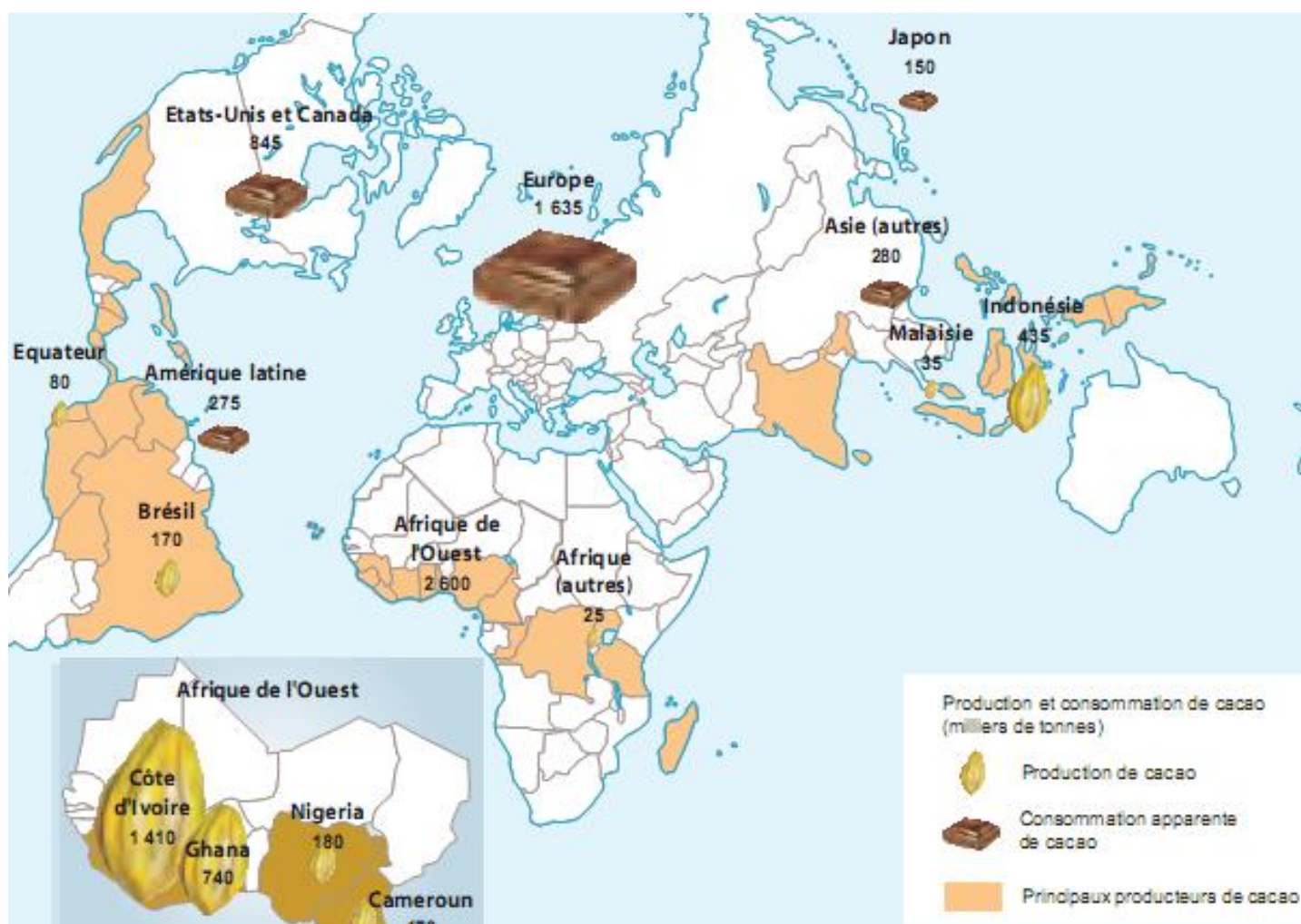


Figure 1 : Répartition des zones de production et des principaux producteurs et consommateurs de cacao. Source ICCO (2007), Club du sahel et de l'Afrique de l'Ouest /OCDE 2007.

1.1.3 Populations de cacaoyers cultivés

Les cacaoyers cultivés sont repartis conventionnellement en dix grands groupes (Motamayor *et al.*, 2008). Ces groupes ont été nommés selon leurs origines géographiques ou le nom du cultivar traditionnel qu'ils représentent. Il s'agit de : Amelonado, Criollo, Nacional, Contamana, Curaray, Guiana, Iquitos, Marañon, Nanay et Purús. Parmi ces groupes, les Amelonado sont cultivés en grande partie au Brésil et en Afrique de l'Ouest et fournissent à eux seuls plus de 80 % de la production mondiale de cacao. Les Criollo ont été les premiers cacaoyers cultivés et produisent un cacao fin. Toutefois, les cacaoyers des groupes Amelonado et Criollo présentent l'inconvénient d'être sensibles à certaines maladies telles que la pourriture brune et le swollen shoot.

1.1.4 Ecologie et physiologie du cacaoyer

1.1.4.1 Facteurs climatiques

Le climat intervient directement sur la croissance et le développement du cacaoyer. Les principaux facteurs climatiques agissant sur le cacaoyer sont la température, la pluviométrie, l'humidité atmosphérique et la lumière (Mosu, 1990). Le cacaoyer exige une température relativement élevée avec une moyenne annuelle comprise entre 21 et 32 °C. La pluviométrie influence significativement le rendement annuel des cacaoyers car ceux-ci sont très sensibles à une déficience hydrique. Les pluies doivent être abondantes mais surtout bien réparties tout au long de l'année. La pluviométrie favorable est généralement comprise entre 1200 et 2000 mm de pluie par an. La culture du cacaoyer nécessite une humidité relative élevée tandis qu'un ombrage provisoire relativement dense ne laissant traverser que 50 % de la lumière totale est indispensable pendant les premières années de cultures des jeunes cacaoyers. L'ombrage provisoire sera diminué progressivement au fur et à mesure du développement du cacaoyer.

1.1.4.2 Facteurs pédologiques

Tous les sols ne sont pas favorables à la culture du cacaoyer. La connaissance des caractéristiques physico-chimiques des sols permet de déterminer leur aptitude à la culture du cacaoyer. Les sols favorables au cacaoyer doivent être aérés et bien drainés avec une profondeur minimale de 1,5 m et une structure homogène et permettant une bonne rétention

en eau. Aussi le pH de ces sols doit être proche de la neutralité (entre pH 6,5 et pH 7) et avoir une bonne teneur en matière organique dans la couche superficielle et répondre à un équilibre ionique des principaux éléments nutritifs notamment N, P, K, Ca et Mg. Les carences et les déficiences minérales entraînent des anomalies foliaires chez le cacaoyer notamment une réduction de la taille des feuilles et des jaunissements du limbe (Braudeau, 1969) qu'il ne faut pas confondre avec les symptômes provoqués par les maladies virales.

1.1.5 Amélioration génétique et sélection du cacaoyer

La sélection permet de mettre à la disposition des planteurs un matériel végétal ayant un potentiel de production, des caractères de plus grandes rusticité et de meilleurs critères de qualité (Braudeau, 1969). Deux méthodes de sélection sont possibles :

- La sélection végétative ou clonale dont l'aboutissement est la distribution du matériel végétal sous forme de bouture. Cette méthode permet de reproduire fidèlement une association intéressante de caractères présentés par un cacaoyer.
- La sélection générative permet la distribution du matériel sélectionné sous forme de semence.

En Côte d'Ivoire, les meilleures descendances hybrides sélectionnées au cours des tests sont recréées à grande échelle dans des champs semenciers par la pollinisation manuelle des clones femelles par des clones mâles sélectionnés.

1.1.6 Méthodes culturales et itinéraires techniques du cacaoyer

La mise en place d'une plantation de cacaoyer nécessite la préparation du terrain, la mise en place des pépinières et son entretien. En Afrique de l'Ouest, les plantations sont pour la plupart composées de cacaoyers issus de graines. Le semenceau émet d'abord un axe orthotrope qui croît de manière continue jusqu'à 18-24 mois. Il développe ensuite une couronne de 3 à 5 branches plagiotropes dont la croissance est indéfinie. Cette couronne émet à son tour un axe orthotrope qui formera une autre couronne, et ainsi de suite. Plus tard, sous ces couronnes de la tige principale partent des axes orthotropes appelés « gourmands » (Braudeau, 1969). La densité classique est de 1320 pieds / ha (3 x 2,5 m en rectangle) et permet une fermeture rapide des couronnes. Il est recommandé d'associer aux cacaoyers des vivriers notamment le bananier à la même densité et de pratiquer la taille et la récolte sanitaire dans les plantations tout en éliminant les arbres d'ombrages susceptibles d'héberger des parasites du cacaoyer tels que les insectes et les virus.

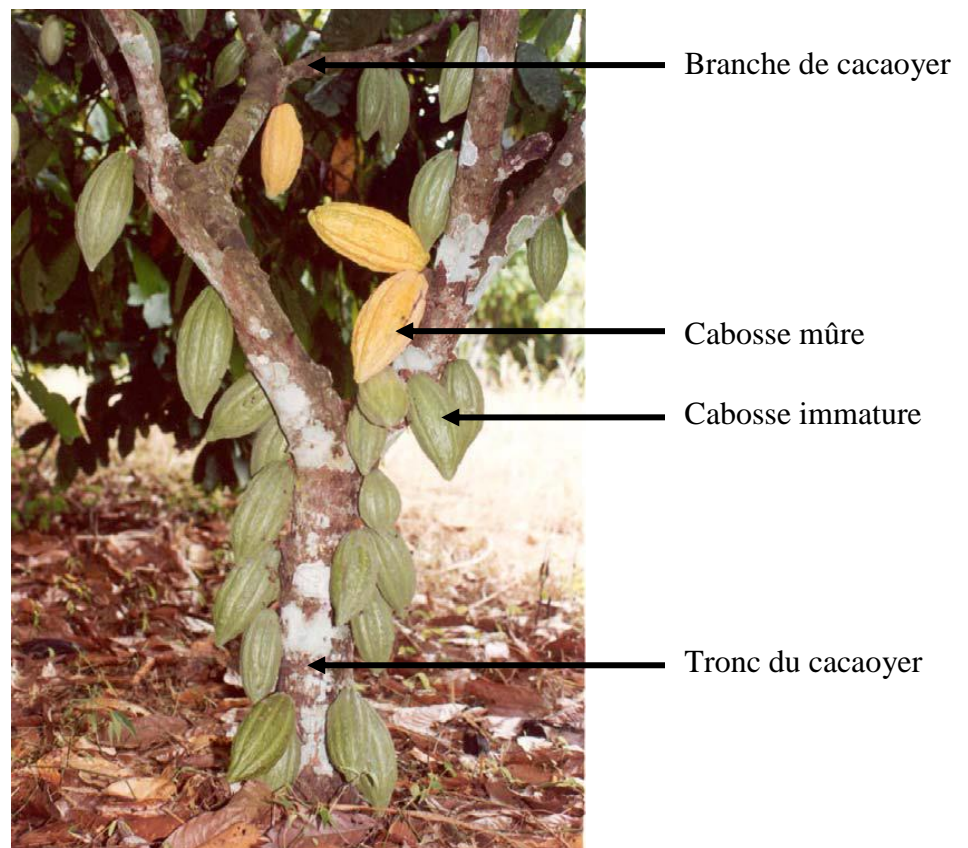


Figure 2 : Cacaoyer en production à la station de recherche de Divo, Côte d'Ivoire
(Photo KEBE B.I., 2003).

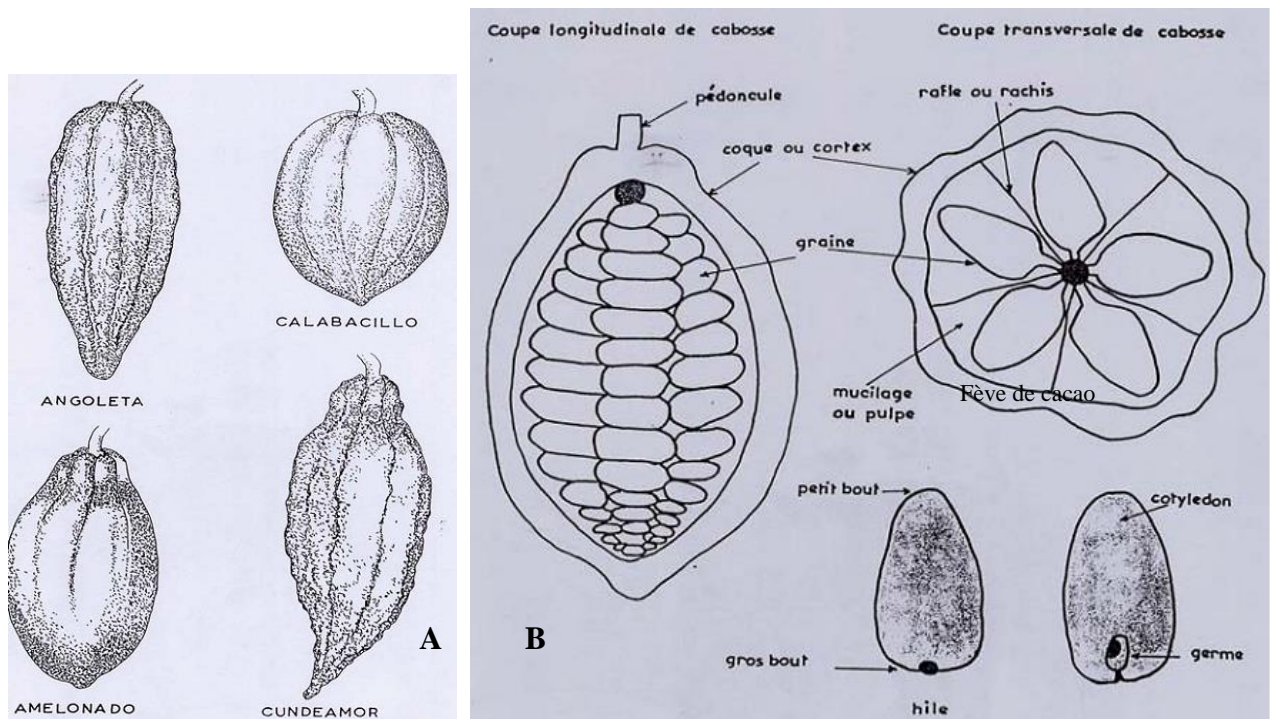


Figure 3 : Principales formes de cabosses (A) et coupes longitudinale et transversale de cabosse (B) (Source : Cahier du stagiaire IDEFOR / DCC, 1996)

1.2. MALADIES ET AUTRES PARASITES DU CACAOYER

1.2.1 Principales maladies du cacaoyer

1.2.1.1 Maladies cryptogamiques

1.2.1.1.1 Pourriture brune des cabosses

La pourriture brune des cabosses est à la fois la maladie du cacaoyer la plus répandue et la plus dommageable au plan économique dans tous les pays producteurs de cacao au monde. La maladie est caractérisée par l'apparition sur le cortex d'une petite tache translucide, qui brunit en 24-48 heures. Cette tâche s'étend plus ou moins rapidement selon la sensibilité du cacaoyer. Par temps humide, cette tache se recouvre après quelques jours, d'un feutrage de mycélium blanc qui révèle la présence du champignon (Figure 4). Après une dizaine de jours, la maladie progresse à l'intérieur de la cabosse et détruit les fèves qui deviennent impropres à la commercialisation. En fin d'évolution, les cabosses restent attachées à l'arbre sous forme momifiées (Blaha et Lotodé, 1976 ; Lass et Wood, 1985). La maladie est provoquée par des Straménopiles ou Hétérokontes (Dic, 2001 ; Baldauf, 2008) du genre *Phytophthora* Spp (Pythiaceae). Les *Phytophthora* sont des organismes à structure végétative diploïde et leur multiplication est accomplie de façon sexuée ou asexuée. Chez les *Phytophthora* plusieurs organes notamment les hyphes, sporocystes et zoospores sont susceptibles de provoquer la maladie sur les cabosses du cacaoyer quel que soit le stade de développement. Toutefois, les zoospores joueraient le rôle de dissémination le plus important. Le sol apparaît la principale source primaire d'inoculum. Les cabosses les plus bas sur le cacaoyer sont contaminées par projection de particules de terre contenant des propagules infectieuses lors des pluies puis la dissémination s'effectue par les eaux de drainage, le vent et les fourmis (Babacauh, 1980). Sept espèces de *Phytophthora* ont été identifiées comme parasite de la pourriture mais deux ont une importance majeure (Vos, 2003) : il s'agit de *P. palmivora* Butl et de *P. megakarya*. En Côte d'Ivoire, les pertes de récolte dues à la pourriture brune dépassent 20 % dans la zone Sud humide où les pluies annuelles sont supérieures à 1500 mm (Kébé, 1996). Les moyens de lutte contre la pourriture brune sont l'application de mesures prophylactiques associées à la lutte chimique raisonnée et la sélection de cacaoyers résistants aux parasites responsables (Tahi *et al.*, 2006). Toutefois, la lutte biologique est d'un grand intérêt (Mpika, 2009).

1.2.1.1.2 Balai de sorcière

Il s'agit d'une maladie essentiellement présente en Amérique du Sud où elle provoque d'importantes pertes de production allant de 30 à 100 % (Vos, 2003).

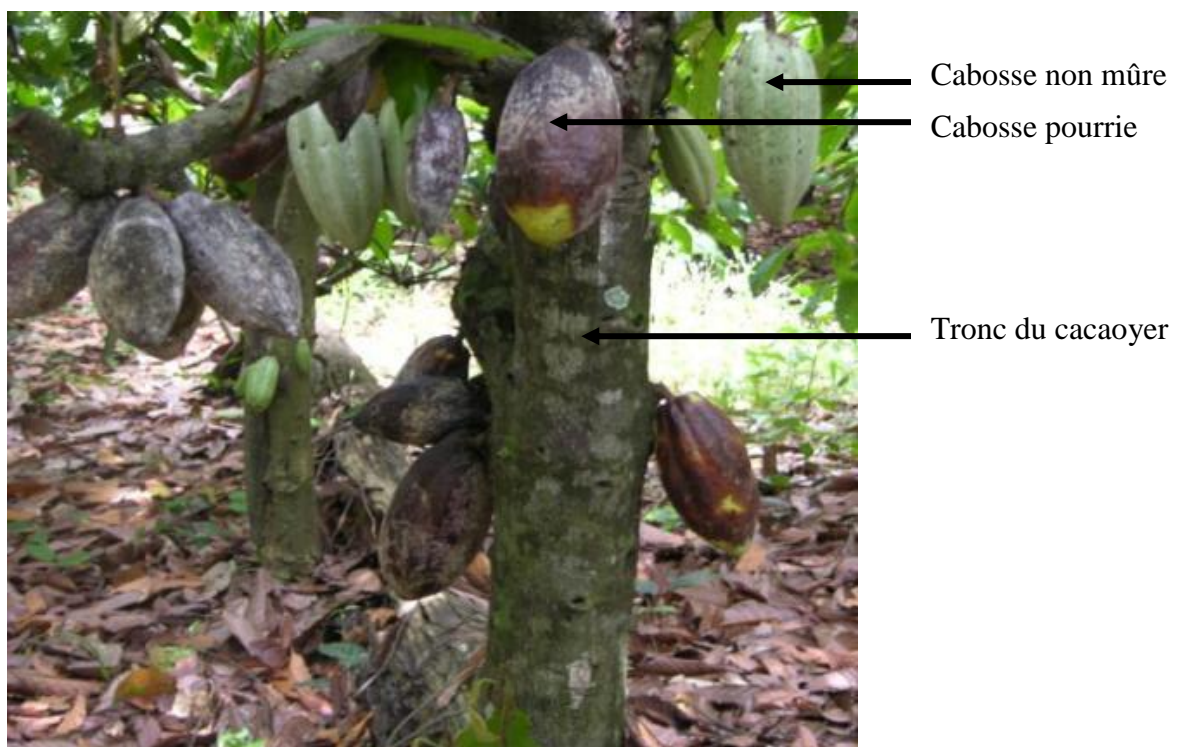


Figure 4 : Cabosses atteintes de pourriture brune sur cacaoyer
(Photo CNRA Divo)

Le parasite responsable de cette maladie est appelé *Crinipelis perniciosa*. Il s'attaque à tous les tissus méristématiques en développement : jeunes pousses, bourgeons floraux, cherelles. Les jeunes pousses infectées par ce parasite prennent un aspect caractéristique de diamètre supérieur aux tissus sains et présentent une prolifération de ramifications latérales. Ces balais meurent au bout de 4 à 6 semaines et bien qu'ils puissent facilement être détachés lorsqu'ils sont complètement secs, ils subsistent assez longtemps sur les arbres. Les cabosses attaquées n'atteignent jamais la maturité car elles sèchent aussitôt et pourrissent sur le cacaoyer. Des champignons de couleur rose apparaissent ultérieurement sur les organes détruits par la maladie, permettant ainsi la dissémination de celle-ci par les spores. La lutte contre cette maladie consiste à l'emploi de fongicides associés à l'enlèvement et à la destruction de tous les balais apparaissant sur les arbres. Toutefois, la sélection de variétés ou de clones résistants à la maladie reste le meilleur moyen de lutte efficace.

1.2.1.1.3 Moniliose

La moniliose est présente dans les zones d'Amérique centrale et du Sud où les pertes causées varient entre 60 et 90 %. Elle représente donc une potentielle menace pour la production de cacao. Cette maladie est due à *Crinipelis roreri*, un champignon qui attaque les jeunes cabosses du cacaoyer. Les fruits attaqués se développent normalement, mais à l'intérieur des cabosses, les fèves pourrissent et sont transformées en une masse brune plus ou moins liquéfiée. Toutes les fèves d'une cabosse peuvent être entièrement détruites sans que des symptômes extérieurs puissent le laisser supposer. Les cabosses malades sèchent sur les arbres et se recouvrent des fructifications du champignon. Les traitements fongicides permettent de lutter contre cette maladie.

1.2.1.1.4 Pourridiés

Les pourridiés sont des champignons qui s'attaquent aux racines du cacaoyer et peuvent dans certaines régions provoquer des dommages très importants. En Afrique, les plus répandus sont *Armellariella mellea* (Wahl.) Quel. et *Fomes lignosus* Kl. dont les attaques provoquent respectivement un éclatement du collet et une inclinaison des cacaoyers. Le mycélium propage la maladie le long des racines et par contact des racines malades à racines saines. Un arbre atteint est irrémédiablement perdu, d'où la difficulté de la lutte contre les pourridiés. Il est conseillé d'en tenir compte dans le choix du terrain et d'effectuer un dépistage soigneux des arbres attaqués au cours des premières années de plantation.

1.2.1.2 Maladies virales du cacaoyer

Le swollen shoot est la principale maladie virale du cacaoyer. Cette maladie est endémique en Afrique de l'Ouest où elle a causé d'importants dégâts au Ghana, au Nigéria et en Côte d'Ivoire (Figure 5). Dans la nature, la transmission se fait par des cochenilles. Cependant la maladie peut se propager par l'utilisation de matériel végétal infecté et à partir d'arbres de forêts considérés comme des réservoirs du virus. Diverses formes de la maladie plus ou moins agressive ont été identifiées. La lutte contre le swollen shoot peut être envisagée sous trois aspects : destruction des insectes vecteurs, suppression des cacaoyers malades et utilisation de matériel végétal résistant aux attaques du virus dans les replantations (Cf. p. 15-27).

1.2.2 Autres agents biotiques du cacaoyer

1.2.2.1 Insectes nuisibles

Environ 500 espèces d'insectes ont été recensées sur le cacaoyer mais seule une petite fraction d'elle est capable de causer d'importantes pertes économiques en cacaoculture (Vos, 2003). En Côte d'Ivoire les principaux ravageurs des cacaoyers sont les mirides ou capsides dont les pertes sont estimées à 30 % de la récolte totale du pays (N'guessan et Coulibaly, 2001). Les mirides attaquent toutes les parties du cacaoyer à l'exception des feuilles. La salive injectée au moment de la piqûre est toxique et détruit les cellules végétales de la plante. Les piqûres sur le tronc et les branches maitresses entraînent leur dessèchement et le brunissement des feuilles qui restent attachées aux rameaux. Les piqûres des mirides entraînent un jaunissement et une chute précoce des cherelles (jeunes cabosses) et des taches brunâtres sur cabosses (Figure 6). Les dégâts des mirides sont généralement intensifiés par l'invasion des tissus nécrosés par *Calonectria rigidiuscula*, un champignon parasitaire (Lavabre, 1970). Les mirides sont des punaises de forme ovale et de taille variable (8 à 10 mm de long) avec des teintes allant du brun au marron-foncé. Plusieurs espèces de mirides s'attaquent au cacaoyer dont 4 espèces sont représentées en Côte d'Ivoire. Il s'agit de *Salbergella singularis* Haglund, *Distantiella theobromae* Distant, *Helopeltis* sp. et *Bryocoropsis* sp.

Parmi ces espèces, *S. singularis* et *D. theobromae* sont les plus répandues dans la cacaoyère ivoirienne. A côté des mirides il existe d'autres insectes dévastateurs des pépinières et des cacaoyers adultes. Ce sont notamment les Psylles (*Tyora tessanni*), la chenille défoliatrice (*Anomis leona*), les scolytes des rameaux (*Xyleborus* sp.), la punaise bigarrée (*Atelocera serrata*), la punaise verte (*Bathycoelia talassina*) et les foreurs de tiges (*Eulophonotus myrmeleon*, *Lepidoptère*).

Branches de cacaoyer
desséchées

Tronc de cacaoyer
desséché



Figure 5 : Dégâts de la maladie du swollen shoot à Bazré (Sinfra) en Côte d'Ivoire

L'application des traitements contre les mirides permettent de limiter les pullulations et les dégâts de tous ces ravageurs. Ces traitements consistent généralement à l'application de techniques culturales (gestion de l'ombrage, désherbage, tailles des gourmands) associée à des traitements insecticides (Duverger, 1989). Mais face aux nombreuses contraintes liées à l'utilisation des insecticides, la recherche de variétés de cacaoyers résistantes aux attaques des insectes nuisibles demeure le moyen le plus efficace (Kouassi, 2001).

1.2.2.2 Phanérogames parasites

Les phanérogames sont des plantes parasites infectant plusieurs autres plantes dont le cacaoyer (Figure 7). Ces parasites appartiennent à la famille des *Loranthaceae*. L'attaque des *Loranthus* provoque la mort des branches et affaiblit le cacaoyer entraînant une diminution de la production et souvent la mort de l'arbre. La pratique de bonnes méthodes culturales permet de supprimer efficacement ces plantes parasites.

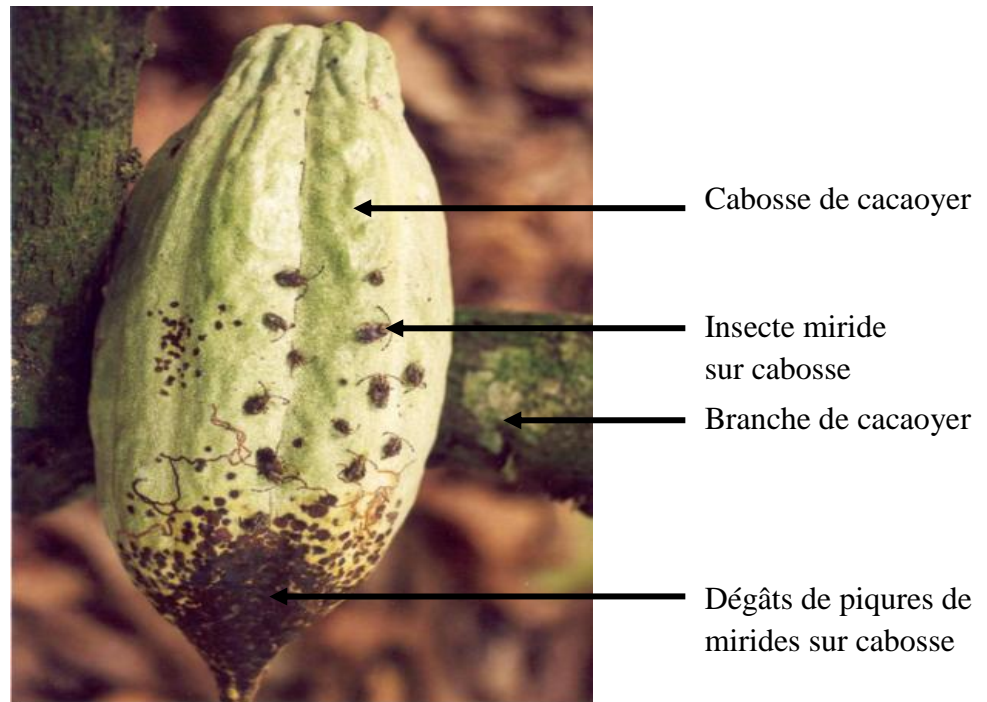


Figure 6 : Dégâts de mirides sur cabosses de cacaoyer
(Photo CNRA Divo)

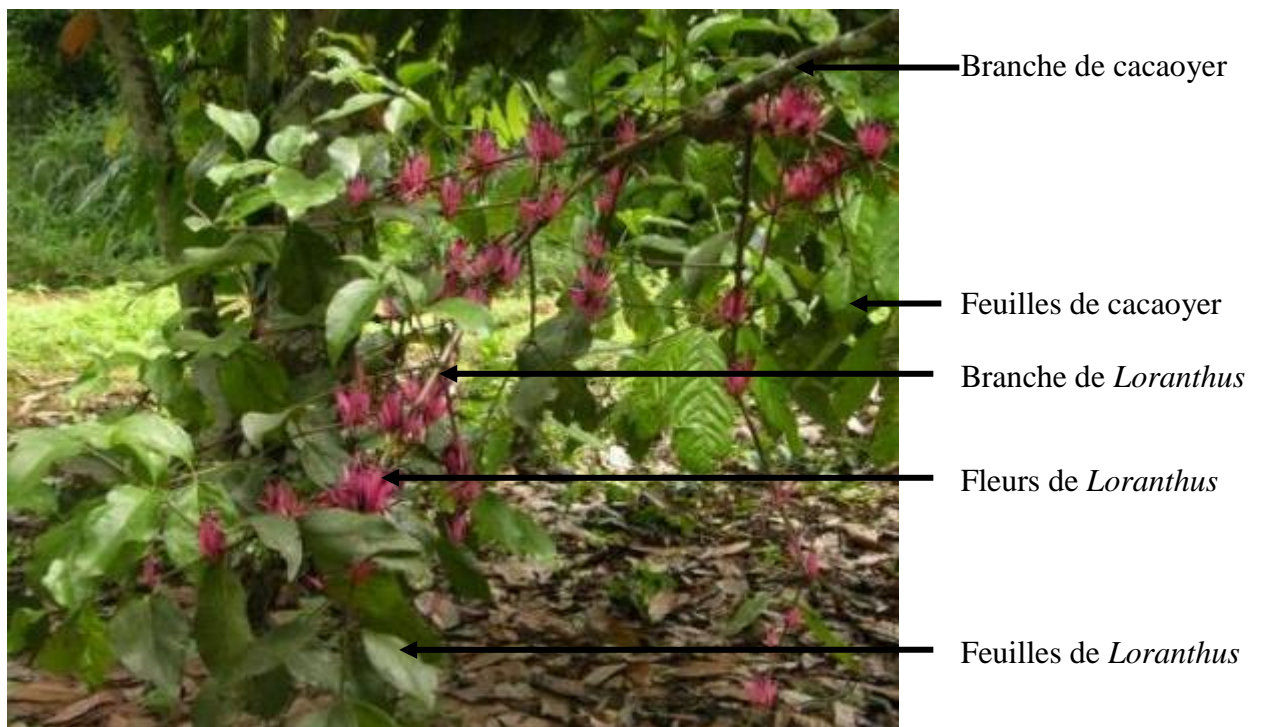


Figure 7 : Attaque de *Loranthus* (plante parasite à fleurs roses sur la photo) sur branches de cacaoyer (Photo CNRA Divo)

CHAPITRE II. LA MALADIE DU SWOLLEN SHOOT DU CACAOYER

2.1 DESCRIPTION DE LA MALADIE

2.1.1 Origine du swollen shoot

Le swollen shoot a été observé pour la première fois en 1922 sur des cacaoyers âgés de 15 ans dans la région de Nankessé à l'Est du Ghana (Posnette 1952). Cependant, il a fallu attendre une vingtaine d'année après pour détecter l'agent pathogène. En effet, les mortalités massives des cacaoyers et le dessèchement des rameaux ont été les premiers signes ayant attiré l'attention des paysans et des chercheurs. Alors que les paysans pensaient à un sortilège, les scientifiques confondaient cette maladie à une autre forme de “die-back” provoquée par *Calonectria rigidiuscula* (Berk. et Br.Sacc) Ampofo (1989). En 1934, un paysan nommé Yaw Sabeng de la localité d'Effiduasi (région de New Juaben au Ghana) ramena de son champ des rameaux gonflés aux personnels du département de l'agriculture. La nature infectieuse de la maladie fut reconnue par Stevens (1936) qui lui attribua le nom de “swollen shoot and die-back”. L'évidence que l'agent pathogène responsable de la maladie était un virus a été obtenu à la station de recherche de Tafo au Ghana (Posnette 1940). Ce virus a été baptisé *Cocoa swollen shoot virus* (CSSV) en 1946 par l'Impérial Mycology Institute aux Royaumes Unis (Wiltshire 1946). Par la suite la maladie a été détectée dans plusieurs pays :

- le Nigeria (Murray, 1945), la Côte d'Ivoire (Alibert, 1946), la Sierra Léone (Attafuah *et al.*, 1963) et le Togo (Partiot *et al.*, 1978) en Afrique de l'Ouest ;
- Des symptômes proches ont été également décrits à Trinidad dans les îles Caraïbes (Posnette, 1943), en Malaisie (Lui, 1979) et au Sri Lanka (Thresh, 1958a) en Asie mais la maladie n'a ni eu la même ampleur, ni été décrite de manière aussi détaillée.

Aujourd'hui, le swollen shoot reste beaucoup plus confiné dans les pays producteurs de l'Afrique de l'Ouest car les foyers de Trinidad et de l'Asie n'ont pas été confirmés jusqu'à présent (Lockhart et Sackey, 2001 ; Vos *et al.*, 2003).

2.1.2 Importance du swollen shoot

Le nombre de cacaoyers arrachés au Ghana a dépassé largement les 200 millions (environ 130.000 ha), mais la maladie y est toujours restée préoccupante (Legg, 1975 ; Owusu, 1983 ; Anthony *et al.*, 2003 ; Dzahini-Obiatey, 2006). Le Togo a déjà enregistré l'arrachage de plus

de 3,5 millions de cacaoyers (Partiot *et al.*, 1978) mais reste aujourd'hui confronté au problème du swollen shoot dans sa plus grande zone de production de cacao (Tsatsu et Bekou, 2003). Thresh (1958b) a rapporté plus de 2 millions de cacaoyers détruits en 10 ans au Nigeria (entre 1946 et 1956) et la maladie y est toujours présente (Dongo et Orisajo, 2007). Des efforts considérables ont été consentis par les gouvernements et les bailleurs de fonds à travers de nombreux projets au Ghana (Burle, 1962 ; Owusu, 1983 ; Thresh *et al.*, 1988 ; Owusu, 1978 ; Anthony *et al.*, 2003 ; Dzahini-Obiatey, 2006), au Togo (Partiot *et al.*, 1978 ; Dogbé *et al.* ; 2006) et au Nigéria (Wood et Lass, 1989 ; Dongo et Orisajo, 2007) en vue de trouver une solution durable au problème du swollen shoot. Malgré tous ces financements, aucune solution véritable n'a pour le moment été trouvée et le swollen shoot sévit toujours dans ces différents pays. Bien que les pays de l'Afrique de l'Ouest se situent presque dans le même environnement écologique, on constate que l'importance de la maladie varie fortement d'un pays à l'autre. La longue histoire du Ghana avec le swollen shoot sans aucune solution véritable doit servir pour renforcer les capacités et diversifier les recherches en Côte d'Ivoire.

2.1.3 Différentes formes de la maladie

Le swollen shoot se présente sous plusieurs formes avec des symptômes variables en fonction de la souche virale, de la variété de cacaoyer et des conditions environnementales. Les principaux symptômes sont les bandes rouges sur les jeunes feuilles, les mosaïques sur les feuilles âgées et les gonflements des rameaux orthotropes. Le terme de "forme virale" avait été arbitrairement utilisé par Dufour en 1987 pour qualifier les différents types du swollen shoot car la caractérisation moléculaire du CSSV a seulement débuté dans les années 90 (Hagen *et al.*, 1993 ; Muller et Sackey, 2005). Il existe des formes virulentes qui peuvent tuer le cacaoyer en trois ans (New Juaben au Ghana, Agoul au Togo, Kongodia en Côte d'Ivoire) et des formes bénignes (Bisa au Ghana). Au champ, les symptômes se présentent sous différentes combinaisons et il est souvent difficile d'identifier avec précision toutes les différentes formes de la maladie sur la base de la symptomatologie. Toutefois, Posnette (1947) a pu reproduire sur la variété indicatrice Amelonado, les symptômes standards de la forme virulente New Juaben. La variabilité des isolats du swollen shoot a donné lieu à l'usage de divers termes pour nommer les formes de la maladie selon les symptômes et les techniques utilisées par chaque auteur. Posnette (1947) en se basant sur la variation des symptômes a identifié quatre variantes du virus 1A, 1B, 1C et 1D tandis que Box (1945) utilisait les chiffres romains (I à IV) pour décrire quatre isolats de CSSV affectant le cacao au Ghana. Sagemann *et al* (1985) ont distingué cinq groupes (de A à E) sur la base des symptômes observés et des

propriétés sérologiques. Au moins 60 isolats de virus ont été identifiés au Ghana sur la base des symptômes produits sur des cacaoyers infectés (Dzahini-Obiatey, 1993). Actuellement, on désigne généralement les formes du swollen shoot par le nom de la localité d'où elles sont originaires.

En Côte d'Ivoire, plusieurs foyers avaient été observés dans la zone cacaoyère mais seulement deux d'entre elles ont particulièrement retenu l'attention des chercheurs : la forme Kongodia et la forme Sankadiokro décrites à l'Est près de la frontière avec le Ghana. La forme Kongodia, observée dans la sous-préfecture d'Agnibilékrou, était très agressive et semblable à la forme New juaben du Ghana tandis que la forme Sankadiokro, dans la sous-préfecture d'Abengourou, était bénigne. Ces deux formes ainsi que celle de Daloa (Figure 7) évoluaient lentement. Toutefois, l'application de la méthode d'arrachage contre le swollen shoot avait permis de déraciner au moins 150 000 cacaoyers en Côte d'Ivoire, soit l'équivalent de 113 ha de cacaoyer.

2.1.4 Propagation de la maladie du swollen shoot

Lorsque la maladie apparaît en un point donné dans une parcelle de cacaoyers, elle s'étend d'abord de façon radiale par le déplacement des cochenilles. Ensuite plusieurs foyers satellites se développent autour de la tache initiale soit par l'action du vent, de certaines fourmis qui déplacent facilement les cochenilles, soit par l'action de l'Homme lors de la récolte des cabosses (Thresh 1958a). La propagation se généralise alors à toute la parcelle et les différents foyers finissent par fusionner détruisant ainsi toute la plantation. L'infection latente où les arbres malades ne présentent aucun signe visible de la maladie, reste la période favorable à la transmission du virus. Ce fait constitue un véritable problème dans l'étude épidémiologique du swollen shoot et a été souligné par plusieurs auteurs (Owusu, 1972 ; Legg et Ollennu, 1974 ; Legg, 1982). Selon ces auteurs, 40 % des cacaoyers ne présentant aucun symptôme dans les 18 m autour d'un foyer de swollen shoot sont en phase d'infection latente.

2.1.5 Lutte contre la maladie du swollen shoot

2.1.5.1 Historique de la lutte contre le swollen shoot

L'histoire de la lutte contre le swollen shoot se résume principalement autour de l'arrachage des cacaoyers infectés. Les campagnes officielles d'arrachage ont été lancées en 1946 dans tous les pays ouest-africains touchés par la maladie lorsque Posnette conclut que l'arrachage des cacaoyers infectés avec leurs voisins immédiats pouvait ralentir l'évolution de la maladie.

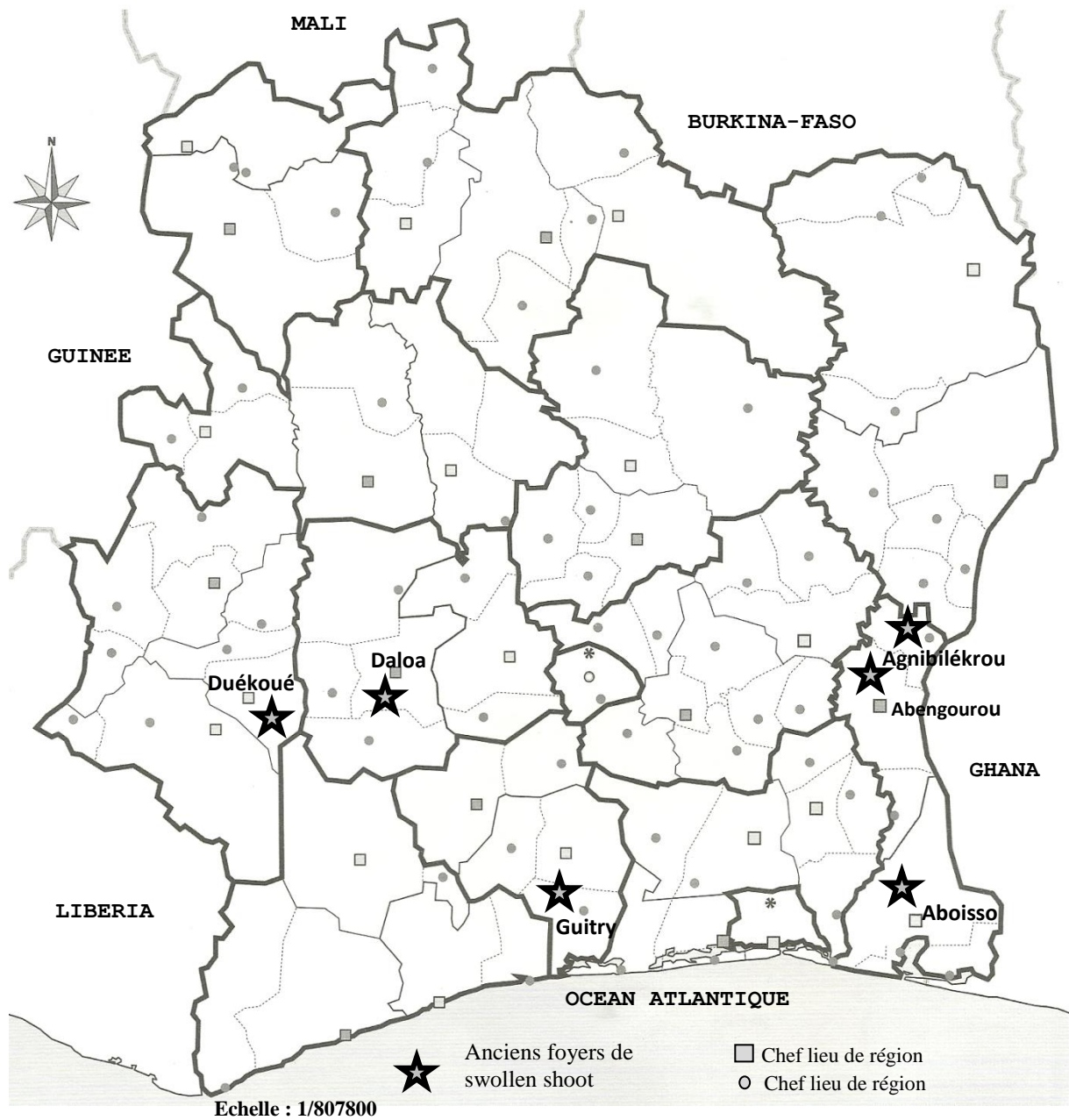


Figure 8 : Répartition des foyers de swollen shoot en Côte d'Ivoire entre 1940 et 1960
(d'après les travaux de Basset, 1945 ; Alibert, 1946 ; Zelensky, 1947 ; Meiffrein, 1948 ; Renaud, 1957).

Cependant, ces campagnes ont connu un début d'exécution difficile à cause de la réticence des paysans. En effet, que ce soit au Ghana, au Nigeria ou en Côte d'Ivoire, les populations s'opposaient vigoureusement contre cette méthode radicale de déraciner les cacaoyers qui constituaient pour elles une source de revenu non négligeable. Selon Burle (1962), les campagnes d'arrachage n'ont pu se poursuivre que grâce à l'octroi d'indemnité aux paysans en fonction de l'incidence de la maladie dans les régions. Malgré ces efforts de primes octroyées par les gouvernements aux paysans sinistrés, l'hostilité des populations envers les programmes d'arrachage n'a pu être désamorcée à cause de problèmes politiques. En réalité, les campagnes de lutte contre le swollen shoot par la seule méthode de l'arrachage n'ont pas permis de contenir la maladie. C'est pourquoi, la stratégie de lutte contre le swollen shoot a été revue au Ghana en 1985. Parmi les nouvelles résolutions prises à la suite de cette révision, on note :

- la mise en place d'un cordon sanitaire entre la zone d'infection massive (AMI) et la zone d'infection sporadique (ASO) ;
- la replantation de variétés améliorées dans le cordon sanitaire ;
- l'exploration de nouvelles voies de lutte contre la maladie du swollen shoot au Cocoa Research Institut du Ghana (Ampofo, 1989 ; Anthony *et al*, 2003 ; Adu-Ampomah et Owusu, 1993 ; Adu-Ampomah *et al.*, 2003 ; Dzahini-Obiatey, 2006).

2.1.5.2 Arrachage des arbres malades

L'arrachage consiste à identifier les cacaoyers malades dans les plantations atteintes du swollen shoot et à les déraciner avec leurs voisins immédiats ne présentant pas de symptômes de la maladie. Ce traitement est suivi d'une inspection régulière chaque six mois en vue de détecter et de déraciner les arbres en infection latente lors de la première phase. Cependant, plusieurs contraintes sont liées à l'application pratique de cette méthode :

- la difficulté de détecter les arbres en infection latente qui constitue une source potentielle de propagation du virus ;
- la non coopération des paysans lorsqu'il s'agit d'arracher les cacaoyers de leur plantation ;
- l'arrachage revient très onéreux pour les gouvernements car il faut financer la formation d'agents spécialisés pour l'inspection des plantations et aussi payer les primes d'arrachage aux paysans ;

- l'arrachage concerne les arbres situés dans un rayon de 30 m autour des foyers. Cet espace peut regrouper entre 200 et 1 000 arbres et dans certains cas plusieurs hectares de cacaoyers. L'abattage d'une telle superficie est contraignant et nécessite beaucoup d'effort.

L'arrachage des cacaoyers malades avait été proposé comme une méthode temporaire en attendant la sélection de matériel végétal résistant ou tolérant au swollen shoot. La méthode d'arrachage a été pratiquée pendant plus de 40 ans au Ghana (Dzahini-Obiatey, 2010) sans résultat satisfaisant. L'expérience du Ghana démontre que les mesures singulières à elles seules ne peuvent résoudre le problème du swollen shoot.

2.1.6 Prémunition

L'utilisation d'une souche bénigne de swollen shoot pour contrecarrer l'attaque d'une souche virulente a été mise en évidence au Ghana par Posnette et Todd (1951 ; 1955). Cependant l'application pratique de cette méthode en milieu paysan n'a jamais eu lieu même dans la zone d'infection massive (AMI). Des recherches complémentaires sont requises (Ollennu *et al.*, 1996) car l'effet des interactions à long terme entre une souche bénigne et une souche virulente de swollen shoot n'est pas encore maîtrisé.

2.1.7 Cordon sanitaire et cultures de barrière

Les cacaoyers infectés constituent une source potentielle du virus et par conséquent représentent un risque pour les replantations. Pour essayer de résoudre ce problème, les paysans sont encouragés à laisser un cordon de 10 m entre les replantations et les anciens pieds de cacaoyers. Des cultures de rente non affectées par le virus du swollen shoot telles que les orangers, le palmier à huile et l'avocatier sont recommandées dans le cordon sanitaire afin d'empêcher la réinfection précoce des jeunes cacaoyers. Par ailleurs, ces cultures pourraient aider les paysans à combler le manque à gagner dû à l'utilisation du cordon sanitaire (Ollennu, 1989 ; Ollennu *et al.*, 2002). Une autre alternative est de replanter en bloc les plantations d'une même zone et de les ceinturer par un large cordon sanitaire et de mener une surveillance stricte à l'intérieur de ces plantations (Anthony *et al.*, 2003). L'application pratique de cette méthode pourrait permettre une bonne réhabilitation des plantations détruites par le swollen shoot à condition de mener une sensibilisation auprès des paysans. En effet, d'une façon générale, les paysans sont propriétaires de petites surfaces et la plupart ne veulent replanter que du cacao. Selon Assiri (2007), chaque paysan ivoirien dispose en moyenne de 6

ha de cacaoyers. Plusieurs foyers peuvent exister dans une même parcelle. Le fait de laisser 10 m autour de chaque foyer replanté réduirait considérablement la superficie de cacao du paysan. Il faudra donc trouver des arguments solides afin de convaincre les paysans à utiliser un cordon sanitaire de manière efficace.

2.1.8 Sélection de matériel végétal résistant

Les Haut Amazoniens présenteraient un certain degré de tolérance à l'infection du virus (Posnette et Todd, 1951). La résistance du matériel végétal obtenue jusqu'à présent est insuffisante pour prévenir la propagation du virus dans des conditions de fortes pressions car les gènes de résistance au swollen shoot ne sont pas confinés dans un groupe défini mais sont dispersés parmi eux (Adu-Ampomah *et al.*, 2003). Le croisement P7 x IMC67 a donné des hybrides supposés résistants au swollen shoot dans les conditions de serre au Togo (Dogbé *et al.* 2006). Par ailleurs, des mutants prometteurs ont été obtenus au CRIG par application de rayons gamma sur les bourgeons végétatifs et sont actuellement en essai en parcelle (Adu-Ampomah *et al.*, 1994). Malgré ces efforts considérables, la question de la mise à la disposition des paysans de variétés résistantes ou tolérantes à la maladie n'est pas résolue.

2.1.9 Prévalence de la maladie du swollen shoot en Côte d'Ivoire

L'enquête de recensement des foyers de swollen shoot en Côte d'Ivoire a porté sur un total de 440 180 plantations de cacaoyers en milieu paysan. Les méthodes de traitements statistiques des données collectées au cours de cette enquête ainsi que les résultats obtenus par région, par département et par Sous-préfecture ont été détaillés dans un rapport (Anonyme, 2009). Le taux de prévalence de la maladie a été de 11 % au plan national (Tableau I). La réalisation de cette enquête a mobilisé 557 agents enquêteurs de l'ANADER relayés dans chaque village par un comité villageois.

2.2 CARACTERISTIQUES DU CSSV

2.2.1 Transmission du CSSV

2.2.1.1 Transmission du virus par cochenilles

Les cochenilles farineuses sont les vecteurs naturels du swollen shoot (Cotterell, 1943). Les cochenilles farineuses sont des insectes (Figure 9) appartenant à l'ordre des Hémiptères et à

Tableau I : Résultats de l'enquête de recensement des foyers de swollen shoot en Côte d'Ivoire (Anonyme, 2009)

Localités	Nombre total	Nombre infecté	Taux de Prévalence (%)
Villages	3 779	791	20.93
Campements	21 976	3 405	15.49
Producteurs	339 633	40 680	11.98
Parcelles	440 180	48 913	11.11

la famille des *Pseudococcidae*. Au moins 14 espèces de *Pseudococcidae* sont capables de transmettre une ou plusieurs formes du virus du swollen shoot selon un mode semi-persistant (Posnette, 1941 ; Cotterell, 1943 ; Alibert, 1951 ; Dale, 1957 ; Bigger, 1972 ; Entwistle, 1972 ; Roivainen, 1976 ; Dufour, 1987; Dufour *et al.*, 1993).

Parmi ces espèces, nous pouvons citer :

Formicococcus njalensis (Laing), *F. citri* (Risso), *Ferrisia virgata* (Okll) ; *F. kenya* (Le Pelley), *F. concavocerrari* (James), *F. congispiums*, *F. sp. celtis*, *Phenacoccus magrevsi*, *Delococcus tafoensis*, *Paraputo anomalous*, *Dysmicoccus breviceps*, *F. pukobensis* (Laing), *F. logispinus* (Targioni) ; *F. hargreavesi* (Laing).

Parmi toutes les cochenilles susceptibles de transmettre le virus, *F. njalensis* est le principal vecteur du swollen shoot et plusieurs travaux ont été consacrés à son sujet notamment sur sa biologie et son écologie (Alibert, 1951; Entwistle, 1972 ; Roivainen, 1976 ; Dufour *et al.*, 1993 ; Adu-Ampomah *et al.*, 2003). *F. njalensis* acquiert généralement le virus à partir des organes tendres du cacaoyer tels que les jeunes rameaux, les jeunes feuilles, les fleurs, les cabosses et le pétiole (Dale, 1954 ; Anon, 1963). Les cochenilles sont fortement associées aux fourmis notamment du genre *Crematogaster*, *Pheidole* et *Sphaerocrema*. Ces fourmis protègent les cochenilles et les déplacent en cas de danger. En retour, la cochenille fournit du miellat sucré aux fourmis. Par ailleurs, on retrouve cette cochenille sur un nombre important de plantes de forêt avoisinant les cacaoyères en Afrique de l'Ouest. L'efficacité de la transmission du virus du swollen shoot par *F. njalensis* dépend notamment du stade de développement de la cochenille et de la période d'acquisition du virus sur le plant malade. La lutte contre les cochenilles est difficile à réaliser. Divers traitements insecticides et biologiques ont été essayé sans succès (Posnette et Strickland, 1948 ; Alibert, 1951 ; Entwistle, 1958). Les insecticides tels que nicotine, parathion, DDT, aldrine, Dieldrine et chlordane ont été utilisés contre les cochenilles et les fourmis associées sans résultat satisfaisant. *Aspergillus parasiticus* (Speare) serait efficace contre *F. njalensis* au laboratoire mais inefficace au champ. *Anagyrus kvuensis* du Kenya et d'autres insectes Hyménoptères ont été introduits dans la cacaoyère Ghanéenne sans succès. Toutefois, *Leptomastis longipennis* (Mercet) et *Coccophoctonus abengouroui* (Risbec) de la famille des *Encyrtidae* parasiteraient *F. njalensis* en Côte d'Ivoire (Alibert, 1951).

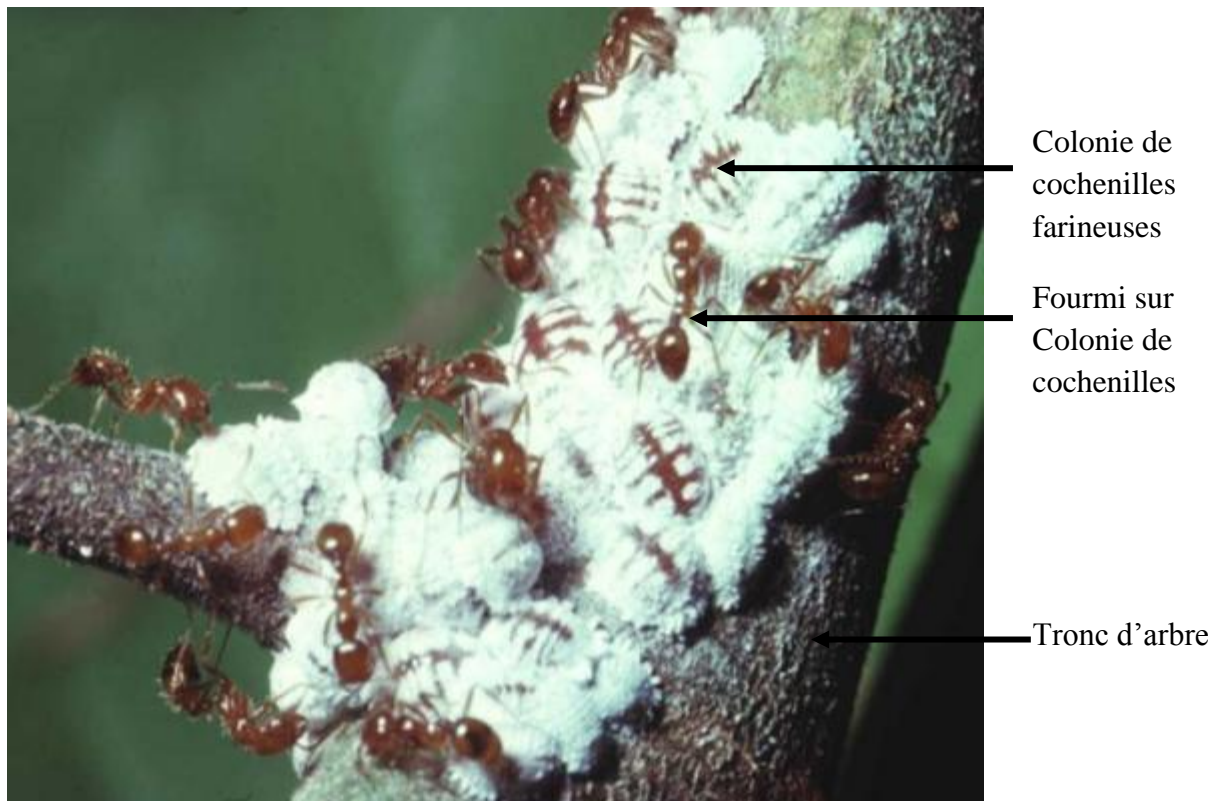


Figure 9 : Cochenilles associées à des fourmis (Vos *et al.*, 2003)

2.2.1.2 Transmission du virus par greffage

Le virus du swollen shoot passe facilement dans le porte-greffe si le greffon est malade et vice versa (Posnette, 1940). Les premiers symptômes foliaires apparaissent environ 4 semaines après le greffage. La technique de greffage sur la variété de cacaoyer Amelonado est utilisée pour la détection du virus sur du matériel végétal de provenance douteuse mis en quarantaine. Mais le greffage sur l'Amelonado est surtout utilisé en serre pour disposer de source d'inoculum d'un isolat donné en vue des tests de criblage du matériel végétal. Des rameaux de l'isolat considérés sont généralement ramenés en serre puis greffés sur des porte-greffes d'Amelonado.

2.2.1.3 Transmission du virus par fève

Le débat sur la transmission du virus du swollen par fève est nouveau. En effet les travaux de Quainoo *et al.* (2008) ont mis en évidence pour la première fois la possibilité d'une transmission du CSSV par l'utilisation de fèves provenant d'arbres infectés. Ces auteurs ont détecté la présence du virus du CSSV par PCR dans des plantules obtenues à partir de cabosses provenant d'arbres infectés par la souche New Juaben. Or jusqu'à présent, tous les auteurs, ayant abordé ce problème dont Posnette (1947) et Partiot (1983) ont toujours affirmé que le swollen shoot n'est pas transmis par graine. Il faut reconnaître que les travaux effectués par le passé sur ce sujet sont uniquement basés sur des examens visuels. Cependant, les résultats obtenus par Quainoo *et al.* (2008) n'ont pu être confirmés (Ameyaw *et al.*, 2009).

2.2.2 Les plantes hôtes du CSSV

Plusieurs espèces de plante présentes dans les forêts d'Afrique de l'Ouest ont été décrites comme étant des hôtes du virus du swollen shoot (Posnette *et al.*, 1950 ; Tinsley et Wharton 1958 ; Legg et Bonny, 1967). Ces espèces appartiennent aussi bien à la famille des *Malvaceae* dont est issue le cacaoyer qu'à diverses autres familles telles qu'*Anarcadiaceae* et *Araceae* :

Malvaceae : *Cola chlamydanthia* K. Schum, *Erythropsis barteri* (mast) Ridley, *Sterculia trangacantha* Lindle, *Sterculia rhinopetala* K. Schum, *Cola gigantea* var. *glabrescens* Bronnan et Keay ; *Adansonia digitata* L., *Bombax buenopozense* P. Beauv., *Ceiba pentandra* (L Gaerth) ; *Corchorus stridens* L.,

Anarcadiaceae : *Spondias mombin*

Commelinaceae : *Commelina erecta*

Araceae : *Xanthosoma sagittaeifolium*

Dans la plupart des expériences ayant donnés ces résultats, la proportion des plantes hôtes susceptibles d'héberger le virus reste très faible malgré l'utilisation de 30 à 100 cochenilles virulifères par plant testé. Ainsi, si l'apparition du swollen shoot semble être la conséquence de l'introduction du cacaoyer dans une région où le virus existait déjà à l'état latent, l'implication des plantes réservoirs dans la propagation actuelle du virus est sans doute très faible. Toutefois, une indication pour montrer qu'une plante indigène pourrait avoir été l'hôte primaire du CSSV serait d'y détecter le virus à travers des échantillons collectés en milieu naturel, loin des cacaoyères infectées.

2.2.3 Isolement du CSSV

Les premières extractions du CSSV ont été l'œuvre de Brunt et Kenten (1963) à partir de feuilles malades dénervurées. La méthode utilisée repose sur le broyage des organes dans du tampon phosphate en présence d'antioxydants suivi d'une dialyse après des étapes de macération, filtration et de centrifugation. Cette technique a permis à Brunt (1970) de décrire la morphologie du CSSV à l'aide de la microscopie électronique. Cependant la faible quantité de virus purifié obtenu à l'aide de ce protocole rend difficile les travaux d'étude du génome du virus. Il a fallu donc modifier et adapter le protocole initial d'extraction du virus (Adomako *et al.*, 1974, 1983 ; Lot *et al.*, 1991 ; Hagen *et al.*, 1993) pour obtenir le premier génome de CSSV caractérisé et séquencé (Agou 1) au début des années 90. A présent, cinq autres isolats de CSSV ont leur génome entièrement séquencé. Il s'agit des isolats Nyongbo2 et Wobe 12 au Togo et New Juaben, Peki et N1A du Ghana (Muller et Sackey, 2005).

2.2.4 Classification et description du CSSV

Le CSSV appartient à la famille des *Caulimoviridae* et au genre *Badnavirus* (Lockhart 1990). La particule virale du CSSV est bacilliforme et mesure 121 à 130 nm de long sur 28 nm de large. La capside du virus du CSSV est non enveloppée. Le génome est circulaire et constitué d'ADN double brin de 7,4 kpb (Lot *et al.*, 1991). Sur le brin positif du génome du CSSV, cinq cadres ouverts de lecture (ORF1, ORF2, ORF3 ORFX et ORFY) ont été localisés (Hagen *et al.*, 1993):

- L'ORF1 code pour une protéine de 16,7 KDa dont la fonction n'est pas encore déterminée ;
- Le produit de l'ORF2 est une protéine de 14, 4 KDa pouvant se fixer aux acides nucléiques (Jacquot *et al.*, 1999) ;

- L'ORF3 code pour une polyprotéine de 211 KDa. Ce cadre de lecture contient des motifs conservés communs à l'ensemble des *Badnavirus*. On peut donc mettre en évidence de l'extrémité amino acide à l'extrémité carboxyl de cette polyprotéine, des séquences consensus correspondant à:
 - une protéine de mouvement de cellule à cellule,
 - un domaine de fixation à l'ARN, contenu dans la protéine de la capsid,
 - une protéase à acide aspartique,
 - une reverse transcriptase (RT) et une RNase H.
- Les ORFX et Y chevauchent l'ORF3. Ils ne sont pas systématiquement présents chez tous les autres *Badnavirus* et codent respectivement pour des protéines de 13 KDa et 14 KDa dont les fonctions sont inconnues (Figure 10).

Le génome viral du CSSV code donc pour des protéines de structure et pour des protéines non structurales dont la reverse transcriptase.

2.2.5 Méthodes de détection du CSSV

2.2.5.1 Détection du CSSV par des tests de transmission

Le greffage et la transmission par des vecteurs du virus à des cacaoyers sains Amelonado sont des techniques pouvant être utilisées pour détecter la présence du CSSV dans une plante suspectée. Les symptômes du virus s'exprimeront alors sur l'Amelonado après une période minimum de 4 semaines après l'inoculation. Roivanen (1976) fut le premier à mettre en évidence la technique de transmission du virus par les cochenilles. Cette méthode est actuellement la plus utilisée dans la majorité des travaux de recherche sur le CSSV. Cependant, la principale difficulté se situe dans l'interprétation des symptômes exprimés.

2.2.5.2 Détection du CSSV par ELISA

La technique ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) a été longtemps utilisée pour détecter le CSSV mais ne permet pas de détecter le virus dans une plante en infection latente où la concentration du virus est faible (Sagemann *et al.*, 1983 ; 1985) et cette technique nécessite de disposer de sérums polyvalents par rapport à la diversité des isolats viraux. Les méthodes sérologiques sont basées sur les propriétés antigéniques des capsides protéiques des virus qui représentent seulement 10 % du génome total des virus (Gould et Symons, 1983). Ces méthodes ne prennent pas en compte le reste du génome du virus contrairement aux

méthodes de détection basées sur l'acide nucléique qui ont l'avantage d'utiliser tout le génome et permettent d'avoir accès à la diversité du génome viral dans son ensemble.

2.2.5.3 Détection du CSSV par la Microscopie électronique

La Microscopie électronique (ME) permet d'avoir des informations importantes sur la morphologie des particules virales dans une préparation purifiée ou partiellement purifiée. La ME ne permet pas de détecter la présence du CSSV dans la sève de la plante à cause de la très faible concentration en virions. Sagemann *et al.* (1985) ont utilisé la ME associée à la technique d'immunosorbent (ISEM) pour détecter et comparer plusieurs isolats du CSSV au Ghana, cette technique nécessitant également l'existence de sérums. Cependant plusieurs difficultés sont liées à l'utilisation de la ME. Il s'agit notamment de la cherté des tests au ME, de la faible capacité du ME à détecter plusieurs échantillons à la fois et surtout du coût élevé de l'appareil et des problèmes de maintenance.

2.2.5.4 Détection du CSSV par PCR (Réactions de polymérisation en chaîne)

La PCR a été utilisée pour amplifier l'ADN du CSSV tout d'abord sur une région du génome conservée (Muller *et al.*, 2001 ; Muller et Sackey, 2005 ; Quainoo *et al.*, 2008) pour tous les autres *Badnavirus* des plantes cultivées tels que le *Banana streak virus* (BSV) chez le bananier, le *Dioscorea alata bacilliform virus* (DabV) chez l'igname, le *Sugarcane bacilliform virus* (SCBV) chez la canne à sucre et le *Rice tungro bacilliform virus* (RTBV) chez le riz. Selon Muller et Sackey, (2005), l'utilisation de la PCR facilite :

- L'accès aux propriétés intrinsèques du virus,
- l'identification de chacune des séquences complètes des isolats du virus avec leurs caractéristiques respectives (ORFs),
- la détermination de la variabilité entre les différentes séquences de nucléotides,
- l'étude de la différenciation des isolats par rapport à leur origine géographique.

La PCR apparaît ainsi comme un outil indispensable pour le diagnostic du CSSV.

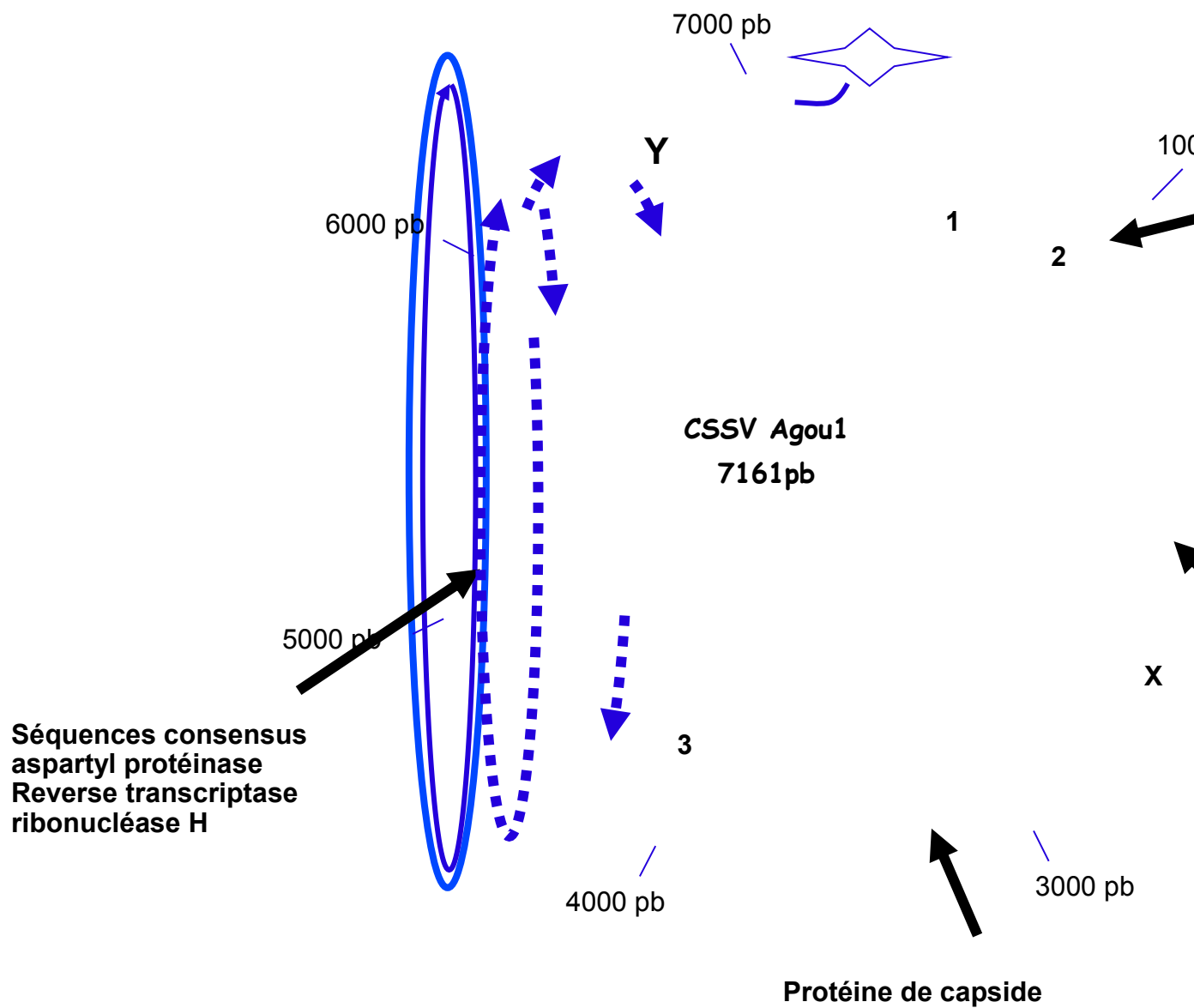


Figure 10 : Le génome circulaire du CSSV (Hagen *et al.*, 1993). Les 5 ORF sont indiqués par des flèches en pointillées à l'intérieur du cercle et notées 1, 2, 3, X, Y. Les protéines

correspondantes aux ORF sont indiquées par des flèches pleines. La graduation du génome est effectuée en paires de base allant de 1000 pb à 7000 pb.

CHAPITRE III. MILIEU DE L'ETUDE

3.1 GEOGRAPHIE DE LA COTE D'IVOIRE

Avec une superficie de 322 462 km², la Côte d'Ivoire de coordonnées 08°N 05°O est située en Afrique de l'Ouest dans l'hémisphère Nord entre le tropique du Cancer et l'équateur. Sa capitale est Yamoussoukro. Le dernier découpage administratif du territoire ivoirien présente 12 districts regroupant 30 régions. Les pays limitrophes de la Côte d'Ivoire sont d'Ouest en Est : Liberia, Guinée, Mali, Burkina Faso, Ghana. En plus de l'océan Atlantique (Golf de Guinée) dans sa limite Sud, quatre principaux fleuves (Le Cavally, Le Sassandra, Le Bandama et le Comoé) traversent le pays du Nord au Sud. La Côte d'Ivoire comporte un patrimoine forestier dans sa partie sud où règne un climat subéquatorial marqué par deux saisons de pluies (avril à août et septembre à novembre). La population de la Côte d'Ivoire est estimée à 20 millions d'habitants en 2006 dont 60 % pratique l'agriculture. Les produits d'exportation pratiqués sont notamment le café, le cacao, le palmier à huile, l'hévéa, le coton, la banane, l'ananas.

Compte tenu des exigences pédo-écologiques de la culture du cacaoyer (Cf. p. 9), les zones de production de cacao en Côte d'Ivoire sont situées dans la moitié sud du pays (Anonyme, 2004a; Yoro et Kassin, 2004 ; Kébé *et al.*, 2005). Dans les principales régions productrices de cacao, la majorité des producteurs est constituée d'allochtones et d'allogènes issus de plusieurs migrations successives à la recherche de forêts et de terres plus fertiles (Ruf, 1995). Pour la création de nouvelles cacaoyères, la plupart des producteurs utilise du matériel végétal provenant de leurs anciennes plantations ou de celles du voisin dont l'état sanitaire n'est pas connu.

3.2 ZONES D'ECHANTILLONNAGE

L'échantillonnage a eu lieu dans les principales régions cacaoyères infectées par la maladie du swollen shoot. Ces zones ont été identifiées à l'issue d'une enquête réalisée dans tout le verger ivoirien (Anonyme, 2009) (Cf. p. 25). Les zones cacaoyères infectées par la maladie du swollen shoot sont dispersées dans les régions de l'Est, du centre-Ouest et de l'Ouest. Les prospections réalisées ont permis de collecter des échantillons dans 58 villages et campements (Figure 11) répartis dans 11 régions (Agnéby-Tiassa, Nawa, Gôh, Haut-Sassandra, Marahoué, Guémon, Indenié-Djuablin, Lôh-Djiboua, Gbôkle, Sud-Comoé et Gontougo) (Annexe).

3.3 SITES DES ESSAIS EPIDEMIOLOGIQUES ET SERRE EXPERIMENTALE

Les essais épidémiologiques ont été répartis dans six principales régions (Nawa, Haut-Sassandra, Marahoué, Guemon, Indenié-Djuablin, Lôh-Djiboua) (Figure 11). Dans la mesure du possible, deux parcelles villageoises ont été retenues par région mis à part les régions du Nawa et du Lôh-Djiboua où 4 parcelles ont été retenues parce que ces localités sont plus proches de la station de recherche Divo abritant le programme cacao du CNRA. Au total, 16 essais ont été mis en place au cours de la campagne cacaoyère 2009 / 2010 (tableau II). Une serre expérimentale basée à Bouaflé au centre-ouest de la Côte d'Ivoire a servi pour les expérimentations en milieu contrôlé. Cette serre comporte plusieurs compartiments isolés par des toiles moustiquaires. Chaque compartiment dispose d'un bac en ciment rempli de sable sur lequel sont rangés les pots ou sachets contenant les plants d'expérimentation.

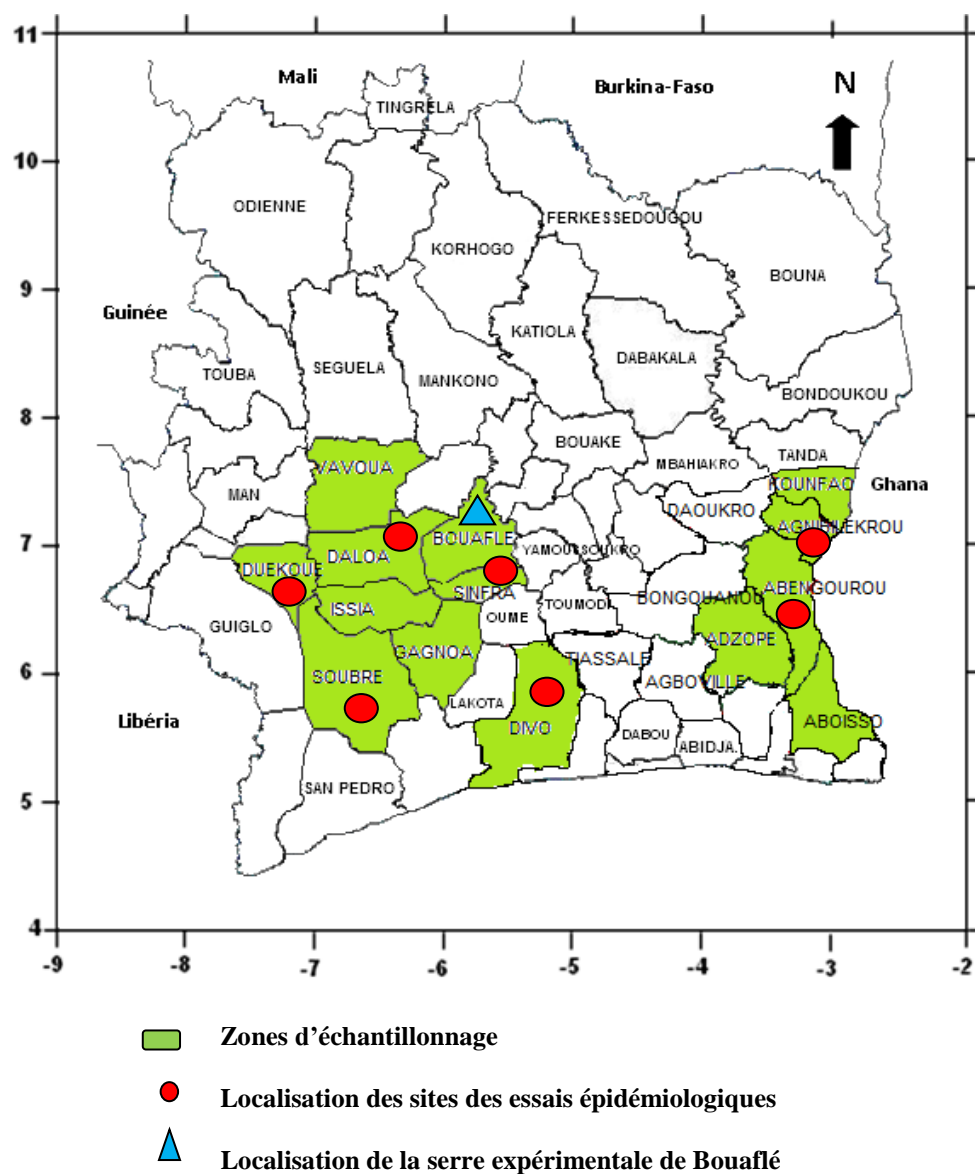


Figure 11 : Zones de l'étude

Tableau II : Localisation des sites de l'étude épidémiologique du swollen shoot

Régions	Sites	Nombre de parcelles
Marahoué	Akakro (Kouétinfla)	1
	Odienékaman (Bazré)	1
Nawa	Zaqueoua	2
	Robert porte (Oupoyo)	1
	Petit-Bondoukou	1
Haut Sassandra	Zaliohan (Gadouan)	1
	Zahirougbeu (Zoukougbeu)	1
Lôh-Djiboua	Labodoukou	1
	Palmci Boubo	3
Guemon	Joachinkro	1
	Bahyé B	1
Indenié-Djuablin	Kongodia	1
	Sankadiokro	1
Total nombre de parcelles		16

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE IV : MATERIEL

4.1. MATERIEL VEGETAL

4.1.1 Matériel végétal en milieu paysan

En Côte d'Ivoire, le matériel végétal utilisé dans les plantations de cacaoyers en milieu paysan est généralement constitué de mélange de variétés de cacaoyers. On y trouve principalement trois types de matériel végétal. Il s'agit premièrement des variétés Amelonado appelés « cacao français » en milieu paysan. L'Amelonado produit du cacao de bonne qualité mais présente l'inconvénient d'être sensible aux maladies telles que la pourriture brune et le swollen shoot. Ces cacaoyers sont aussi caractérisés par une faible productivité (0,5 t/h/an). En Côte d'Ivoire, les premières plantations étaient majoritairement constituées de l'Amelonado (Braudeau, 1969). Deuxièmement, il s'agit des descendances d'hybrides Hauts Amazoniens introduits de manière contrôlée ou non à partir du Ghana appelé « cacao Ghana ». Ce type de matériel est haut producteur et présente des caractères de résistance aux maladies. Mais ces cacaoyers entrent tardivement en production (entre 5 et 6 ans). Enfin, troisièmement, il s'agit des descendances d'hybrides issus de la sélection « cacao Mercédès » et vulgarisés à grande échelle en milieu paysan par la recherche depuis 1975. Ces variétés de cacao présentent des caractères de précocité (entrée en production en 2 ou 3 ans), de productivité (2,5 à 3 t/ha/an) et de tolérance aux mirides et à *Phytophthora palmivora*. Les qualités technologiques des fèves issues de ces hybrides sont nettement améliorées (en moyenne 88 fèves pour 100g et 57,5 % de matière grasse). Toutefois ce matériel performant présente un faible taux d'adoption (seulement 15%) en milieu paysan (Assiri, 2010). L'échantillonnage en milieu paysan a porté sur de jeunes feuilles de cacaoyers présentant les symptômes de bandes rouges le long des nervures du limbe (figure 12).

4.1.2 Matériel végétal utilisé en serre

Des plantules homogènes de la variété Amelonado (IFC5 X IFC5) âgées de 6 mois provenant de la station de recherche de Divo ont été utilisées comme porte-greffe en serre pour la conservation des isolats. L'Amelonado est considéré comme une plante indicatrice du swollen shoot à cause de sa sensibilité à cette maladie (Posnette, 1940). Des rameaux de cacaoyers témoins sains (PA107 et T79/501) ont été prélevés à la station de Divo.

4.2. MATERIEL TECHNIQUE ET LOGICIELS

4.2.1 Matériel technique

Le matériel technique utilisé au champ et en serre est constitué:

- d'un sécateur et un émondoir qui ont servi au prélèvement des feuilles et des rameaux tandis que des enveloppes en papier et une glacière ont été utilisées pour la conservation des échantillons au cours des prospections ;
- d'un pied à coulisse, d'une balance électronique à pile de marque Tefal (France) utilisés pour les mensurations de dimensions et de poids des cabosses tandis que les cacaoyers ont été repérés dans les parcelles à l'aide de la peinture à huile;
- des greffoirs, des étiquettes, de la feuille adhésive paraffine de marque Parafilm ;
- de l'eau de javel 12 % qui a permis de désinfecter les outils après chaque prélèvement et des fiches de notation ont servi à relever des informations au champ.

4.2.2 Logiciels d'analyse

Les logiciels utilisés ont été essentiellement constitués d'une part de logiciels d'analyse de séquences et d'autre part de logiciels d'analyse statistiques. Ainsi, le logiciel BioEdit (Hall, 1999) a permis le nettoyage et l'alignement des séquences. Les logiciels PhyML (Guindon et Gascuel, 2003), Darwin (Perrier and Jacquemoud-Collet, 2009), Geneious v5.1 (Drummond *et al.*, 2010) ont été utilisés pour la construction des arbres phylogénétiques. Le logiciel SAS (1989) a permis de réaliser les analyses de variances.

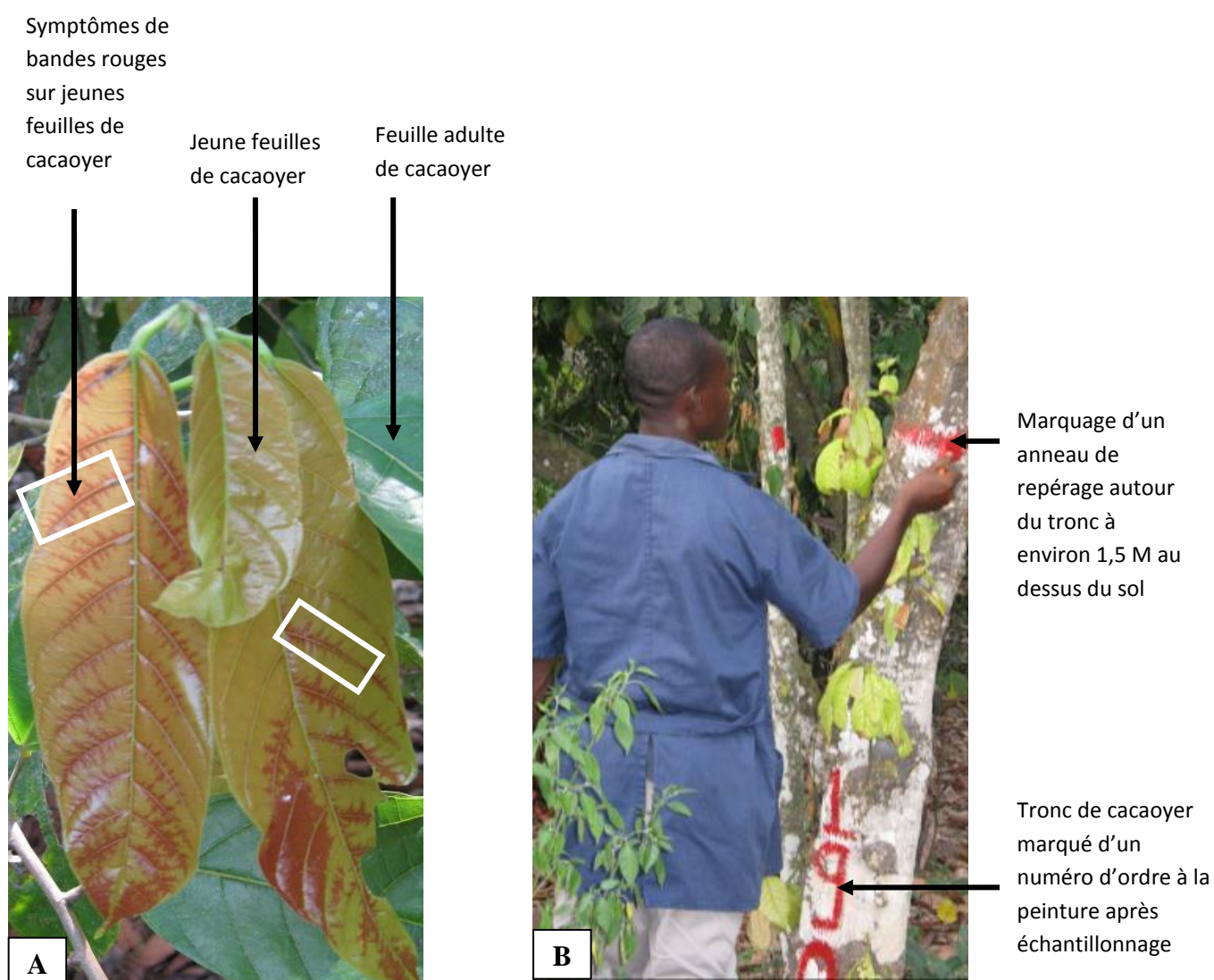


Figure 12 : Symptômes de bandes rouges du swollen shoot sur jeunes feuilles anthocyanées de cacaoyer (A) et marquage d'un tronc de cacaoyer après échantillonnage (B)

CHAPITRE V : METHODES

5.1. ETUDE EPIDEMIOLOGIQUE DU SWOLLEN SHOOT

5.1.1 Caractérisation de la maladie au champ

5.1.1.1 Choix et mise en place des essais au champ

Les 16 parcelles ont été choisies en tenant compte de la répartition spatiale des foyers identifiés par l'enquête. Chaque plantation choisie a présenté des cacaoyers vivants autour du foyer de la maladie. Deux plantations choisies dans une même région ont été suffisamment éloignées l'une de l'autre tout en étant facilement accessibles. L'essai a été mis en place dans la parcelle autour d'un foyer de swollen shoot. A partir de ce foyer, 5 lignes de 10 cacaoyers, orientées dans des directions différentes ont été repérées. Les cacaoyers repérés sur chaque ligne ont été numérotés au tronc de proche en proche à partir de l'arbre vivant le plus proche du foyer. Cette numérotation a été faite à l'aide d'une peinture à huile. Sur la ligne, chaque cacaoyer est identifié à la fois par un numéro de ligne (L1 à L5) et par un numéro de position sur la ligne (A1 à A10). Par exemple, les cacaoyers de la ligne 1 ont été identifiés par les numéros L1A1, L1A2, ...L1A10, ceux de la ligne 2 par L2A1, L2A2, ...L2A10 et ainsi de suite jusqu'à la ligne 5 (Figure 13). Les cacaoyers situés à la même position sur chaque ligne sont considérés équidistants du centre du foyer. Ils appartiennent donc au même secteur. Dix secteurs (secteur 1 à 10) ont ainsi été délimités autour du foyer. Parallèlement, 10 cacaoyers témoins sans symptômes ont été choisis dans la partie considérée 'saine' de la plantation et numérotés de T1 à T10. La superficie de l'essai a été déterminée à l'aide d'un GPS type Garmin GPSmap 60 autour du foyer tandis que la densité de plantation a été estimée par la méthode des carrés de 10 m x 10 m (Assiri, 2007). La fréquence des observations et de la collecte des données dans chaque essai a été de 3 mois à partir de la date de sa mise en place.

5.1.1.2 Description des symptômes

La description des symptômes de la maladie a porté sur les différents organes (feuilles, rameaux, cabosses, racines) des cacaoyers malades et des prises de vue photographiques ont été effectuées. Les principaux paramètres observés sur les organes sont :

- la forme des feuilles, le type de mosaïques ou de nécroses ;

- la présence ou l'absence de gonflements ainsi que leur fréquence sur les rameaux des cacaoyers dans le foyer ;
- la forme, la taille et l'aspect du cortex des cabosses ;
- l'absence ou la présence de gonflements sur les racines.

Les symptômes recensés ont été regroupés selon le type d'organe, l'isolat du virus et la localité.

5.1.2 Evaluation des dégâts

Dans chaque essai, la superficie de l'espace vide du foyer représentant les cacaoyers déjà morts a été déterminée à l'aide d'un GPS de type Garmin GPSmap 60 (Tableau III). Un dénombrement initial de tous les cacaoyers portant des symptômes de la maladie a été effectué lors de la mise en place de l'essai. Le nombre des nouveaux cas présentant des symptômes visibles est déterminé à chaque passage (Madden et al, 2008). Tous les cacaoyers malades comptabilisés au cours d'un passage ont été marqués avec une même couleur de peinture. Le nombre total de cacaoyers morts dans le foyer a été déterminé par la formule :

Nombre de cacaoyers morts = Superficie de cacaoyers morts (ha) x densité (pieds/ha).

Le nombre total de cacaoyers vivants dans l'essai a été obtenu par la formule :

Nombre cacaoyers vivants = [Superficie de l'essai (ha) x densité] - [Nombre de cacaoyers morts].

La prévalence de la maladie a été calculée :

Prévalence = [nombre cacaoyers malades / nombre total cacaoyers vivant dans l'essai] X 100.

L'incidence de la maladie a été calculée par la formule :

Incidence = nombre nouveaux cacaoyers malades / [Nombre 'cacaoyers sains'+ nombre nouveaux cacaoyers malades].

5.1.3 Détermination de l'impact de la maladie sur la production de cacao

Un comptage du nombre de cabosses sur chaque cacaoyer et une mesure des dimensions des cabosses ont été effectués. A cet effet, dans la mesure du possible, trois cabosses mûres ont été récoltées sur chaque arbre (y compris les témoins) et les paramètres suivants ont été mesurés :

- poids moyen de cabosse ;

- longueur et diamètre moyen de cabosse ;
- poids de 100 fèves ;
- nombre de fèves plates.

Le volume moyen de cabosse a été calculé selon la formule de Waters et Hunter (1928) :

$V = L. (\pi.D)^2 / 22$, V représente le volume, L la longueur et D le diamètre du fruit.

Un classement des localités a été effectué à partir des paramètres mesurés selon le test de Newman-Keuls au seuil de 5 % avec le logiciel SAS (1989) et une comparaison des moyennes entre les arbres proches du foyer (secteurs 1 à 10) et les témoins a été réalisée.

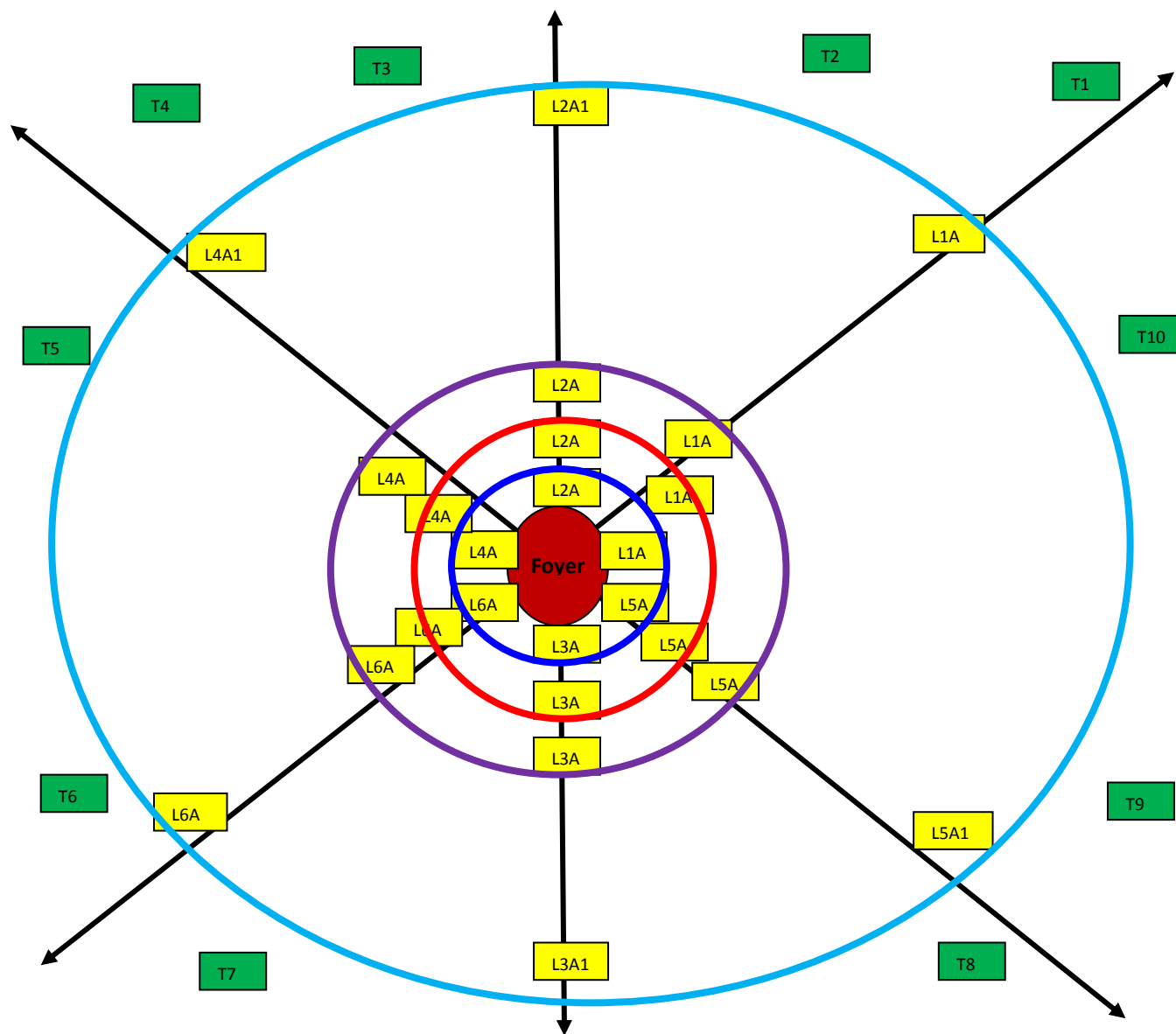


Figure 13: Schéma montrant la disposition des arbres marqués par rapport au centre du foyer.
 Le foyer est représenté au milieu en rouge. Les cacaoyers repérés sur les lignes génératrices sont en jaune tandis que les arbres témoins sont en vert. Ici les secteurs sont délimités par des courbes de différentes couleurs. Les cacaoyers du secteur 1 sont reliés par une courbe bleue.

Tableau III : Superficies des essais et densités de plantation

Localités	Nom du planteur	Superficie de l'essai (ha)	Densité moyenne (pieds /ha)
Duékoué	Kondro Alexis	0,43	2200
	Houssou Konan	0,64	2900
Soubré	Simpore Drissa	1,06	2000
	Ouattara B.	0,30	1900
Grand-Zattry	Gnaoré Joachim	0,91	1900
	Amandê Diané	0,33	2000
Daloa	Touré	0,78	1800
	Ouédraogo	0,22	1600
Divo	Kentoré Arouna	0,63	1500
	Kouassi Yao	0,90	1600
	Nando Cyrille	0,30	1500
	Kokora Joseph	0,46	1400
Sinfra	Sawadogo	0,24	1500
	Kodjané joseph	0,34	1320
Abengourou	Kouadio Oi K.	0,90	1900
Agnibilékrou	Kpangny N.	0,52	2000

5.2. DETECTION ET ETUDE DE LA DIVERSITE DU *Cocoa swollen shoot virus*

5.2.1 Détection du virus

5.2.1.1 Collecte des échantillons de feuilles de cacaoyers

La collecte des échantillons a porté sur des jeunes feuilles de cacaoyers infectés par le virus du swollen shoot. Les feuilles prélevées ont présenté des symptômes caractéristiques de bandes rouges indiquant la présence de la maladie sur le cacaoyer. De plus ce type de feuilles permettrait une meilleure détection du virus (Muller *et al.* 2001). Le choix des zones de prospections a été effectué en considérant les sous-préfectures dont le nombre de parcelles atteintes par la maladie est supérieur ou égal à 10. Dans chacune de ces sous-préfectures choisies, 2 villages non voisins ont été repérés avec l'appui de l'ANADER des zones concernées en tenant compte de l'ampleur des dégâts et de leur accessibilité. Dans chaque village, 4 parcelles infectées non contigües ont été échantillonnées. Dans chaque parcelle, les feuilles ont été collectées sur 5 à 10 pieds de cacaoyers atteints de swollen shoot. Sur chaque cacaoyer, 3 à 5 jeunes feuilles portant les symptômes de bandes rouges ont été prélevées. Dans la mesure du possible, dans chaque plantation, les échantillons ont été prélevés sur des cacaoyers situés dans des foyers différents. Dans le cas d'un seul foyer, l'échantillonnage a été effectué sur des cacaoyers non voisins immédiats. Au total, 615 échantillons de feuilles de cacaoyers ont été collectés dans 119 parcelles réparties dans 58 villages et campements de 28 Sous-préfectures de la Côte d'Ivoire dont la liste est indiquée en Annexe.

5.2.1.2 Extraction de l'ADN total des feuilles

Les échantillons ont été mis à 37 °C à l'étuve toute une nuit avant broyage afin d'homogénéiser le séchage des feuilles. Des échantillons de feuilles infectées par le swollen shoot collectées au Togo ont été utilisés en témoins positifs. Le broyage a porté sur 100 mg de feuilles de cacaoyers séchées mises dans un tube de 2 ml contenant une bille en céramique. Un broyeur à bille de type MP Fast prep-24 a été utilisé. Les échantillons ont été broyés en 2 fois 20 secondes afin d'obtenir une poudre très fine. L'ADN total des échantillons a été extrait soit par l'utilisation du protocole tampon Matab (Gawal et Jarret, 1991), soit le Plant DNeasy Mini Kit (Qiagen). Les extraits d'ADN obtenus ont été conservés à -20°C.

5.2.1.3 Amplification de la séquence nucléotidique partielle ORF3 du génome du CSSV

5.2.1.3.1 Mélange réactionnel

Le diagnostic moléculaire du CSSV a nécessité l'amplification de la séquence nucléotidique partielle du génome du CSSV dans la partie ORF3 codante pour une protéine de mouvement du virus à partir d'une PCR classique. Le mélange réactionnel PCR d'un volume total de 25 µl a été composé de :

- 2,5 µl de chaque amorce à 10 µM,
- 2,5 µl tampon 5x (fourni avec l'enzyme Promega et contenant du MgCl₂),
- 2µl du mélange de dNTP (à 2,5 mM chacun)
- 0,2µl de DNA polymérase Gotaq (Promega) à 5U/ µl,
- 5µl d'extrait d'ADN (dilué au 1/10)
- Eau stérile milliQ.

5.2.1.3.2 Couples d'amorces utilisées

Deux couples d'amorces issus de la première partie de l'ORF3 du génome du CSSV correspondant à la protéine de mouvement de cellule à cellule du virus ont été utilisés (Figure 14). Dans un premier temps, les analyses ont été effectuées avec le couple d'amorces ORF3CSSVF/R amplifiant un fragment de 724 pb (Oro *et al.*, 2012). Ensuite, le couple d'amorces ORF3AF/R a été dessiné à partir de l'alignement de séquences nucléotidiques partielles de l'ORF3 du génome après séquençage de nouveaux isolats du CSSV. Les caractéristiques de ces deux couples d'amorces sont indiquées dans le tableau IV. Le programme PCR est constitué d'une phase de dénaturation à 94 °C pendant 3 minutes qui est suivie par 35 cycles de 94 °C pendant 30 s, 49 °C (T_m des amorces) pendant 30 s, 72 °C pendant 1 min et une élongation finale de 72 °C 10 min.

5.2.1.4 Electrophorèse en gel d'agarose

Pour la visualisation des fragments amplifiés à partir des virus, une électrophorèse en gel d'agarose 1 % dans du tampon de migration TAE 0,5X a été réalisée à partir des produits PCR. Les produits PCR ont été chargés dans les puits du gel en présence de tampon de migration 6x contenant du bleu de bromophénol. Un marqueur de taille 1 kb est parallèlement déposé sur le gel. Le gel est mis à migré à 100 V dans une cuve d'électrophorèse type Mupid pendant 30 minutes. Après migration, le gel a été coloré dans du Bromure d'Ethidium (BET)

pendant 15 minutes puis rincé. Le gel est ensuite placé dans un appareil transilluminateur UV à caméra relié à un ordinateur et les images sont visualisées à l'aide du logiciel vision-capt.

5.2.2. Caractérisation de la diversité moléculaire du CSSV

5.2.2.1 Séquençage dans la partie ORF3 du génome du CSSV

Dans la mesure du possible, deux isolats détectés par le diagnostic PCR ont été choisis par parcelle pour le séquençage. Un séquençage direct des isolats obtenus a été réalisé par la société Cogenics® (Beckman Coulter Genomics) en France.

5.2.2.2 Analyse des séquences partielles ORF3 du génome du CSSV

Chaque séquence nucléotidique partielle ORF3 obtenue a d'abord été nettoyée en supprimant manuellement les oligonucléotides d'amorces aux extrémités 5' et 3'. Ensuite un alignement des séquences partielles ORF3 a été effectué avec le programme d'alignement multiple Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) sur l'interface du logiciel BioEdit (Hall, 1999). Les arbres phylogénétiques ont été construits par la méthode Neighbor joining (Saitou et Nei, 1987) avec le logiciel Geneious v5.1 (Drummond *et al.*, 2010) et par la méthode de maximum de vraisemblance (Neyman, 1971) avec le logiciel PhyML (Guindon et Gascuel, 2003) avec 1000 répétitions de bootstraps. La séquence du *Citrus yellow mosaic virus* (CiYMV) (AF347695) a été utilisée comme outgroup pour l'enracinement des arbres phylogénétiques. Des séquences nucléotidiques de la même région ORF3 d'autres isolats du CSSV ont été utilisées pour la construction des arbres phylogénétiques. Les numéros d'accèsion des autres séquences ORF3 utilisées sont : Agou1-93 (L14546), NewJuaben-00 (AJ608931), N1A-00 (AJ609020), WOB12-02 (AJ781003), Peki-00 (AJ609019), NYO2-98 (AJ534983), AKP4-00 (JN165107), AHL1-00 (JN165108), AHL4-04 (JN165110), AHL6 (JN165112), DAN1-04 (JN165113), DZO1-03 (JN165114), DZO2-03 (JN165115), DZO3-04 (JN165116), DZO4-04 (JN165117), KDA8-05 (JN165119), KEB10-05 (JN165120), KPM1-05 (JN165124), OBI1-04 (JN165129), OBI2-04 (JN165130), TOV2-03 (JN165131), ITI1-04 (JN165132), WOB8-02 (JN165136), GAD5-05 (JN165140). Les isolats ont été regroupés sur la base du pourcentage d'identité entre les séquences partielles ORF3 du CSSV obtenues lorsque celui-ci est supérieur 80 %.

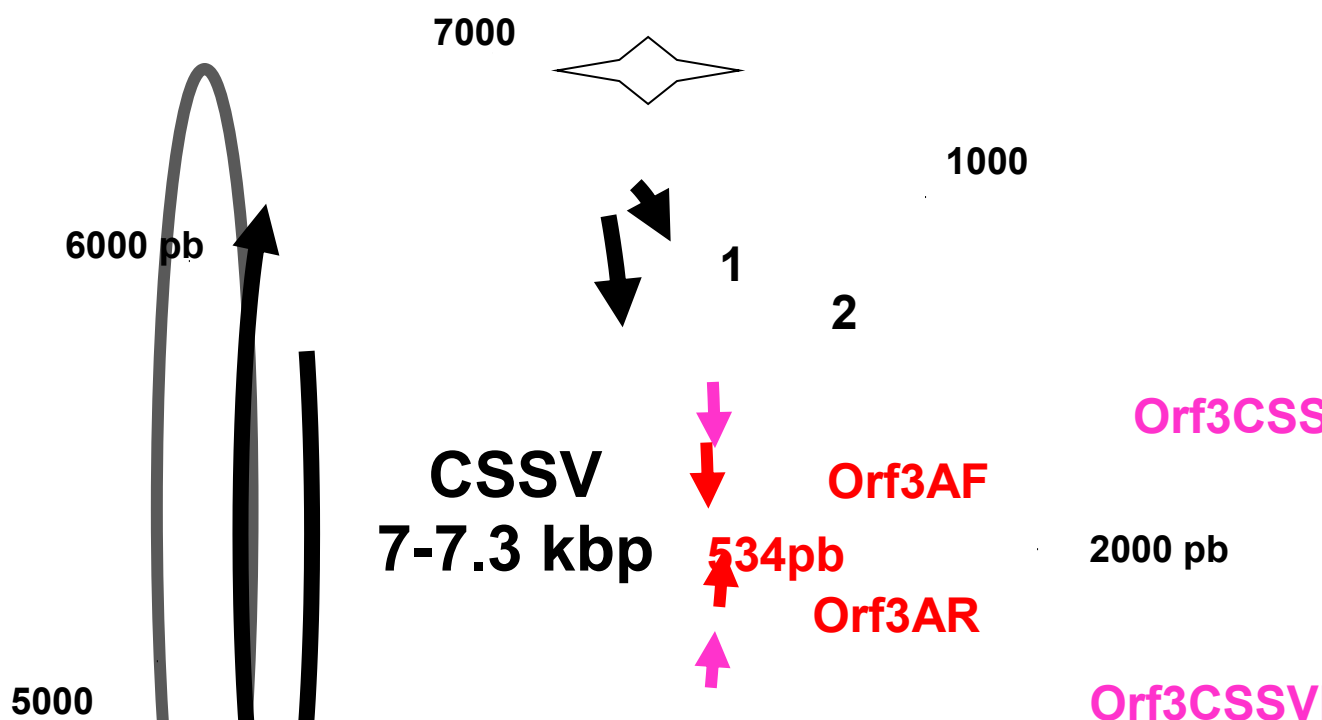


Figure 14 : Localisation de la zone d'accrochage des amorces utilisées. Les ORF 1, 2 et 3 sont indiqués par des flèches pleines en couleur noir à l'intérieur du cercle. Le couple d'amorce ORF3CSSV F/R amplifie une taille de 720 pb dans la première partie de l'ORF3 (portion des flèches en rose). Le couple ORF3A F/R s'accroche à l'intérieur de la région correspondant aux amorces ORF3CSSV F/R et amplifie une taille de 534 pb (portion des flèches en rouge). La graduation du génome est effectuée en paires de base allant de 1000 pb à 7000 pb.

Tableau IV: Caractéristiques des couples d'amorces ORF3CSSV F/R et ORF3A

Nom des amorces	Amorces	Position des amorces sur le génome du CSSV	Taille amplifiée par les amorces	Température fixation des amorces
ORF3CSSV F/R (Oro <i>et al.</i> , 2012)	F: 5'C-AYM-GNC-ARG-ARG-ARG-GNA-CNA-TGG3' R: 5'C-CCA-NCC-NGT-NGC-DAT-DAT-YTG3'	Portion de la protéine de mouvement de l'ORF3 (extrémité amino acide)	724 pb	49° C
ORF3A F/R	F: 5'GTYRTACCRRAYAYYATG ATGAC3' R: 5'GTTYCCRTTTSYRGAYTCYTCCCACATAC3'	Portion de la protéine de mouvement de l'ORF3 (extrémité amino acide)	534 pb	49° C

5.2.3. Etablissement de la distribution géographique des isolats du CSSV

5.2.3.1 Représentation de la carte des isolats du CSSV

Les arbres phylogénétiques sont constitués de branches regroupant les séquences nucléotidiques partielles des isolats du CSSV en fonction de leur similarité sur la portion de l'ORF3 étudiée. A la fin des analyses phylogénétiques, les groupes de virus identifiés ont été rapportés à leur localité de collecte. L'ensemble des isolats identifiés a été disposé sur une carte en fonction de leur zone de collecte.

5.2.3.2 Conservation des isolats de CSSV en serre à Bouaflé

Des rameaux semis-aoutés de cacaoyers infectés par des isolats du virus dont les caractéristiques moléculaires sont connues ont été collectés au champ et greffés en serre sur des porte-greffes de cacaoyers âgés de 6 mois. Des rameaux sains provenant également de la station de recherche de Divo non infectés par le virus du swollen shoot ont été utilisés comme témoins. La technique de greffage en écusson a été utilisée. Les plants greffés ont été disposés sur des bacs sableux dans la serre (Figure 15) et régulièrement suivis. Après 5 mois d'évolution en serre, des échantillons de jeunes feuilles ont été prélevés sur les plants greffés pour des tests de détection du virus au laboratoire pour confirmer le type moléculaire des isolats conservés.

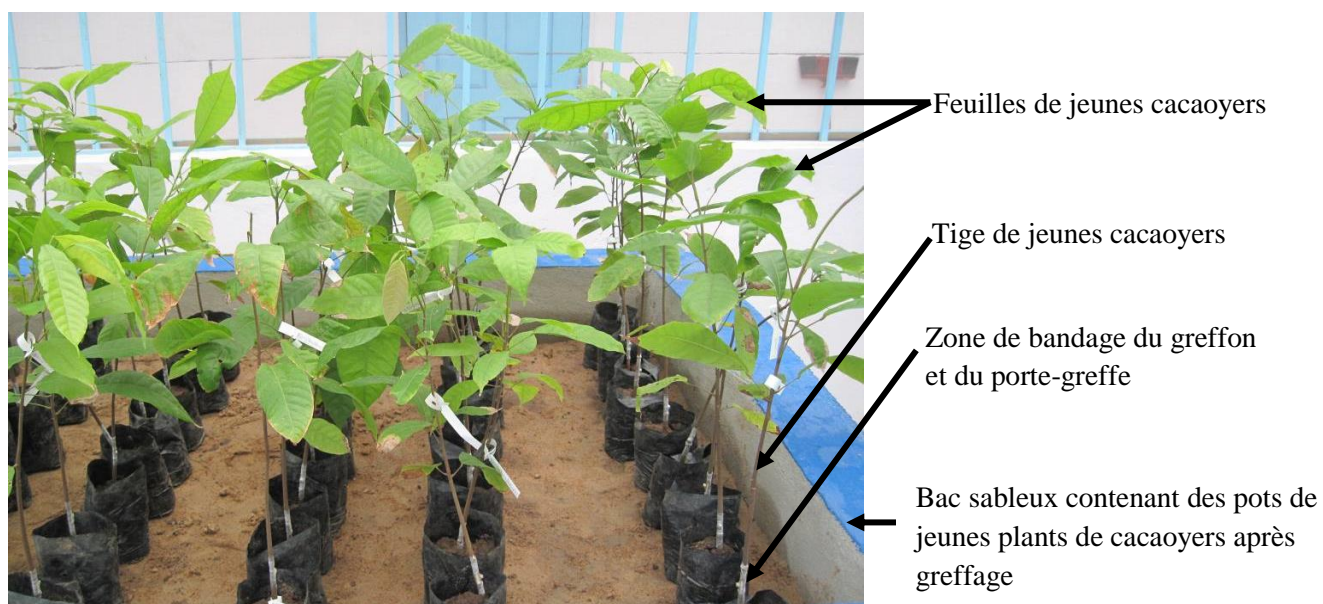


Figure 15 : Plants de cacaoyers greffés en serre à Bouaflé (Côte d'Ivoire) pour la conservation des isolats du CSSV.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS

CHAPITRE VI : EPIDEMIOLOGIE DU SWOLLEN SHOOT

Les résultats présentés dans ce chapitre ont été obtenus à partir d'observations effectuées au champ dans des parcelles paysannes en zones infectées (Cf. p. 36-37). Les observations ont porté sur la description des symptômes, le comptage et la mesure des dimensions et de poids des cabosses et des fèves. Ensuite, la mesure des espaces détruits et le dénombrement des cacaoyers malades ont été effectués régulièrement par intervalle de 3 mois. Une analyse de variance des données collectées a été réalisée (Cf. p. 42-43-44). Ces résultats portent sur la description des principaux symptômes, l'évaluation des dégâts occasionnés et l'impact de la maladie sur la production des cabosses et la qualité des fèves.

6.1. ASPECTS SYMPTOMATIQUES DU SWOLLEN SHOOT

6.1.1 Symptômes foliaires

Sur les feuilles du cacaoyer, les symptômes du swollen shoot ont été différents selon que les feuilles soient jeunes ou âgées.

Les jeunes feuilles anthocyanées appelés « flush » ont présenté des symptômes de bandes rouges visibles le long du réseau de nervures (principales, secondaires et tertiaires) (Figure 16 A et B). Ces symptômes ont été le plus souvent associés à des lésions nécrotiques en position apicale, distale ou réparties en anneaux sur le limbe des jeunes feuilles. Le suivi des symptômes de bandes rouges sur les jeunes feuilles anthocyanées au cours du temps a permis de relever la disparition des bandes rouges sur les feuilles lorsqu'elles sont devenues adultes et que leur coloration a viré au vert. Dans certains cas, la disparition des bandes rouges a été suivie de l'apparition de taches jaunes sur la feuille adulte (mosaïques foliaires). Dans d'autres cas, la feuille devenue adulte a présenté un aspect normal sans dépigmentation. Ce résultat signifie que les bandes rouges disparaissent sur les feuilles lorsque les pigments chlorophylliens prennent le dessus sur les anthocyanes. Les symptômes de bandes rouges ont été constamment observés dans tous les foyers étudiés.

Sur les feuilles adultes, deux types principaux de mosaïques ont été observés : le modèle jaunissement le long des nervures dit « mosaïque en fougère » (Figure 16 C) et le modèle jaunissement intra- nervure dit « mosaïque réticulée » (Figure 16 D). Des lésions nécrotiques ont été souvent associées à ces mosaïques comme dans le cas des jeunes feuilles. D'autres anomalies foliaires ont été observées sur les feuilles âgées des cacaoyers atteints de swollen

shoot : des feuilles en forme effilée (Figure 17 A), des feuilles présentant une sévère chlorose du limbe (Figure 17 B) et des mosaïques atypiques (Figure 17 C et D). Toutefois, la similitude de ces anomalies avec l'effet de certaines carences en éléments nutritifs du sol sur le système foliaire du cacaoyer n'a pas permis de classer systématiquement ces anomalies comme étant des symptômes caractéristiques du swollen shoot.

6.1.2 Symptômes axillaires

Le symptôme de gonflements des rameaux a été observé aussi bien sur les rameaux orthotropes appelés "gourmands" que sur les rameaux plagiotropes des branches. Des symptômes de gonflements ont été observés sur des rameaux orthotropes de différents stades de développement des tiges notamment les stades semi-aoûté, aoûté et adulte). Le gonflement peut être basal, inter-nodal, nodal ou apical (Figure 18). Plusieurs types de gonflements ont été observés à la fois sur un même rameau. Les symptômes de gonflements de tige ont été constamment associés à des nécroses apicales du rameau.

6.1.3 Symptômes sur cabosses

Les cabosses des arbres atteints de swollen shoot ont présenté plusieurs types d'anomalies : cabosse de petite taille et arrondie (Figure 19), marbrures sur le cortex des cabosses non mûres sur les arbres malades. Ces marbrures sont marquées par le plus souvent par des colorations vert-foncé ou rouge-bordeaux sur le cortex (Figure 20). Ces signes sont absents sur les cabosses mûres de couleur jaune. Toutefois, les cabosses des arbres atteints de swollen shoot ne sont pas toutes de petite taille et de forme arrondie. Dans les cabosses déformées par la maladie, les fèves sont plus petites (Figure 21) en comparaison aux fèves des cabosses normales.

6.1.4 Symptômes sur racines de cacaoyers

Les gonflements et les nécroses ont été les principaux symptômes observés au niveau des racines de cacaoyers atteints de swollen shoot. Ces signes ont été facilement visibles sur les racines secondaires et sur les radicules. La présence des gonflements sur les racines secondaires a donné l'aspect de racines tubérisées (Figure 22) comparables aux tubercules du manioc (*Manihot esculenta* ; *Euphorbiaceae*). Les gonflements sur les racines ont été le plus souvent associés à des nécroses. Dans la majorité des cas, les arbres ayant présenté des gonflements sur les racines étaient tous moribonds. Plusieurs gonflements ont été observés sur

une même racine. Les gonflements sont généralement situés soit à l'apex des racines, soit au niveau des nœuds racinaires ou entre les nœuds. La fréquence de ce symptôme a varié d'une parcelle à l'autre comme dans le cas du symptôme de gonflement sur les tiges. Les cacaoyers atteints de swollen shoot ne présentent pas tous des gonflements sur leurs racines.

6.1. 5 Morphologie des cacaoyers atteints de swollen shoot au champ

Dans les foyers de swollen shoot, la majorité des cacaoyers atteints par la maladie ont perdu une bonne partie de leur canopée laissant ainsi infiltrer une grande quantité de rayons solaires et une émergence des mauvaises herbes (Figure 23). Les quelques feuilles encore visibles sur les cacaoyers des foyers ont présenté une coloration jaune indiquant une perte de chlorophylle et un désordre physiologique au niveau de la plante. Les extrémités des rameaux ayant perdu leurs feuilles ont été desséchées. Les arbres atteints de swollen shoot ont présenté très peu de fleurs et de cabosses. Les rameaux orthotropes situés à la base du cacaoyer ont présenté des entre-nœuds raccourcis et les nouvelles pousses foliaires paraissent anormales. La plupart des symptômes de gonflements de tige ont été observés sur des rameaux orthotropes.

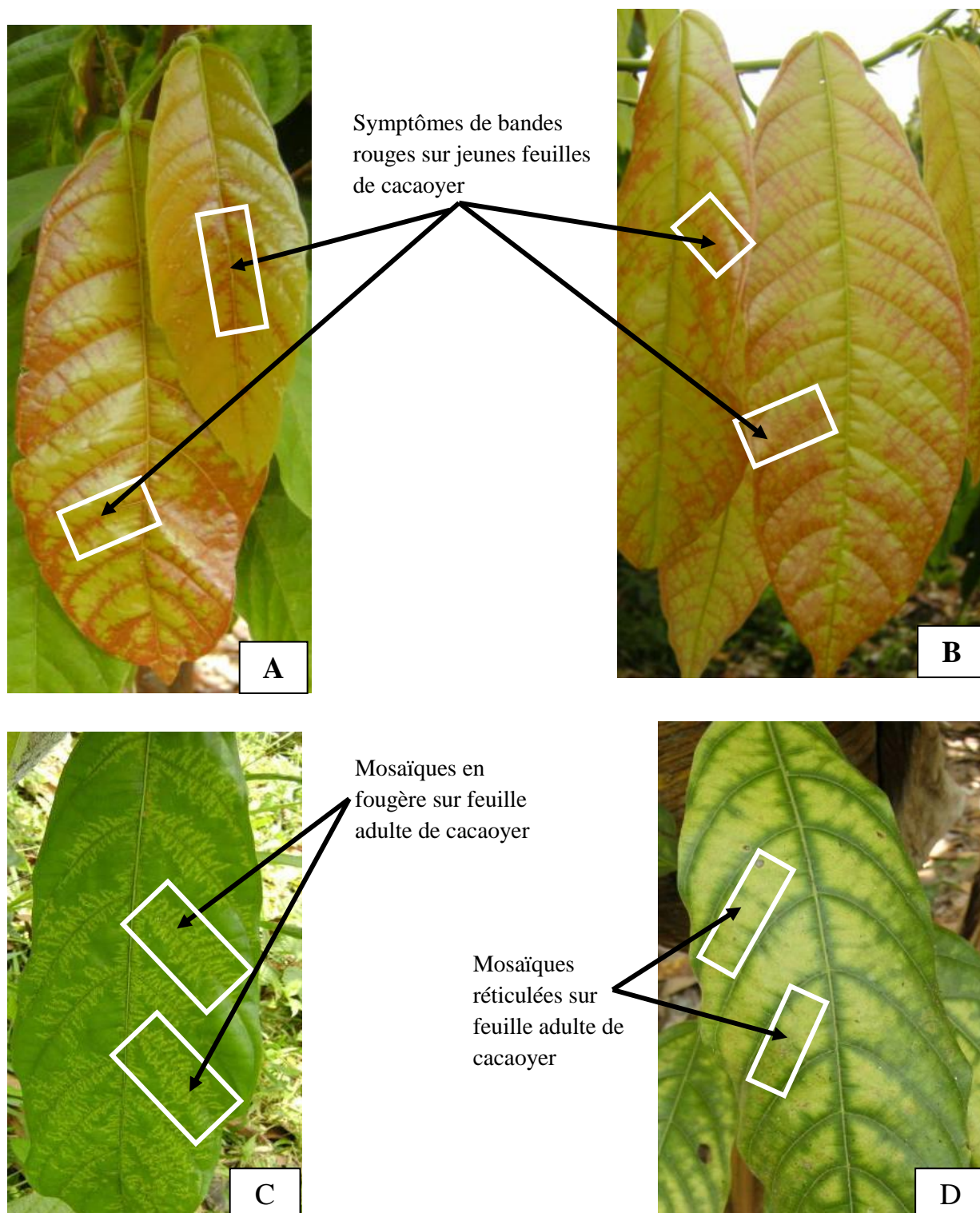


Figure 16 : Principaux symptômes foliaires de la maladie du swollen shoot du cacaoyer en Côte d'Ivoire :

(**A**): Bandes rouges sur nervures principales et secondaires ; (**B**) : Bandes rouges sur nervures secondaires et tertiaires ; (**C**) : Jaunissement le long des nervures principales et secondaires de feuille adulte de cacaoyer (mosaïque en fougère ou « Fern pattern ») ; (**D**) : Jaunissement entre les nervures de feuille adulte de cacaoyer (mosaïque réticulée).

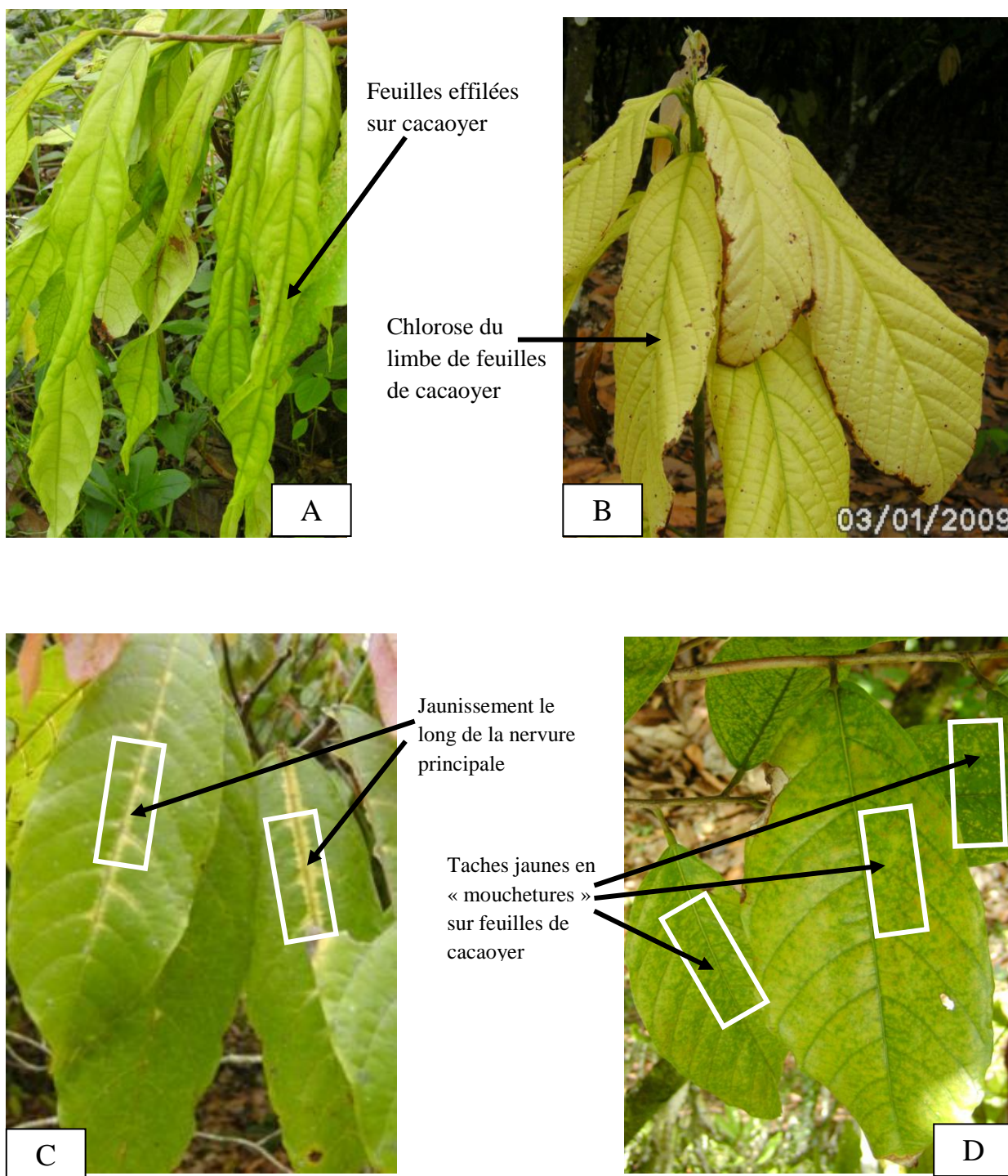


Figure 17 : Autres symptômes foliaires de la maladie du swollen shoot du cacaoyer en Côte d'Ivoire :

(A) : Feuilles effilées sur cacaoyer atteint de swollen shoot, B Chlorose totale du limbe de feuilles de cacaoyer atteint de swollen shoot. Les bordures du limbe présentent des nécroses semblables à des brûlures ; (C) : Jaunissement le long de la nervure principale de feuilles de cacaoyer atteint de swollen shoot ; (D) : Taches jaunes en « mouchetures » sur feuilles de cacaoyer atteint de swollen shoot.

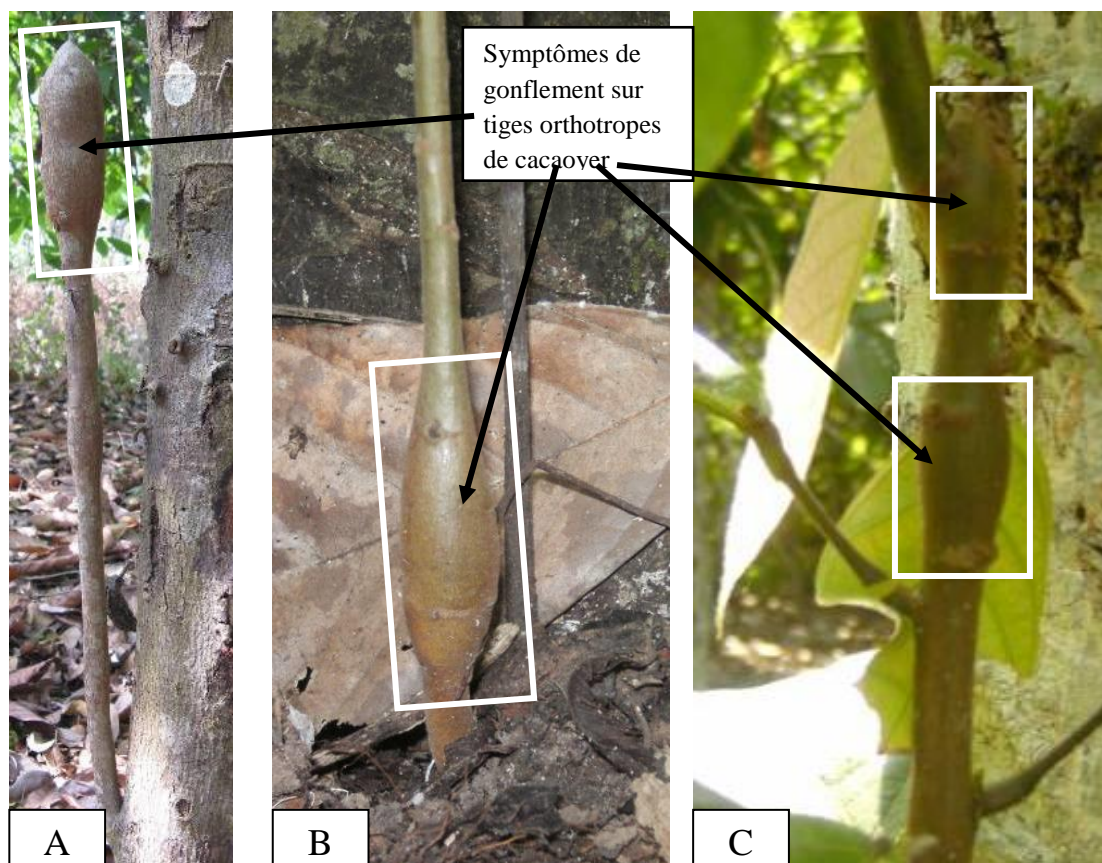


Figure 18 : Symptômes de swollen shoot sur tiges de cacaoyer
 (A): Gonflement apical; B: Gonflement nodal; (C): Gonflement inter-nodal et apical.



Figure 19 : Symptôme de swollen shoot sur cabosses de cacaoyer

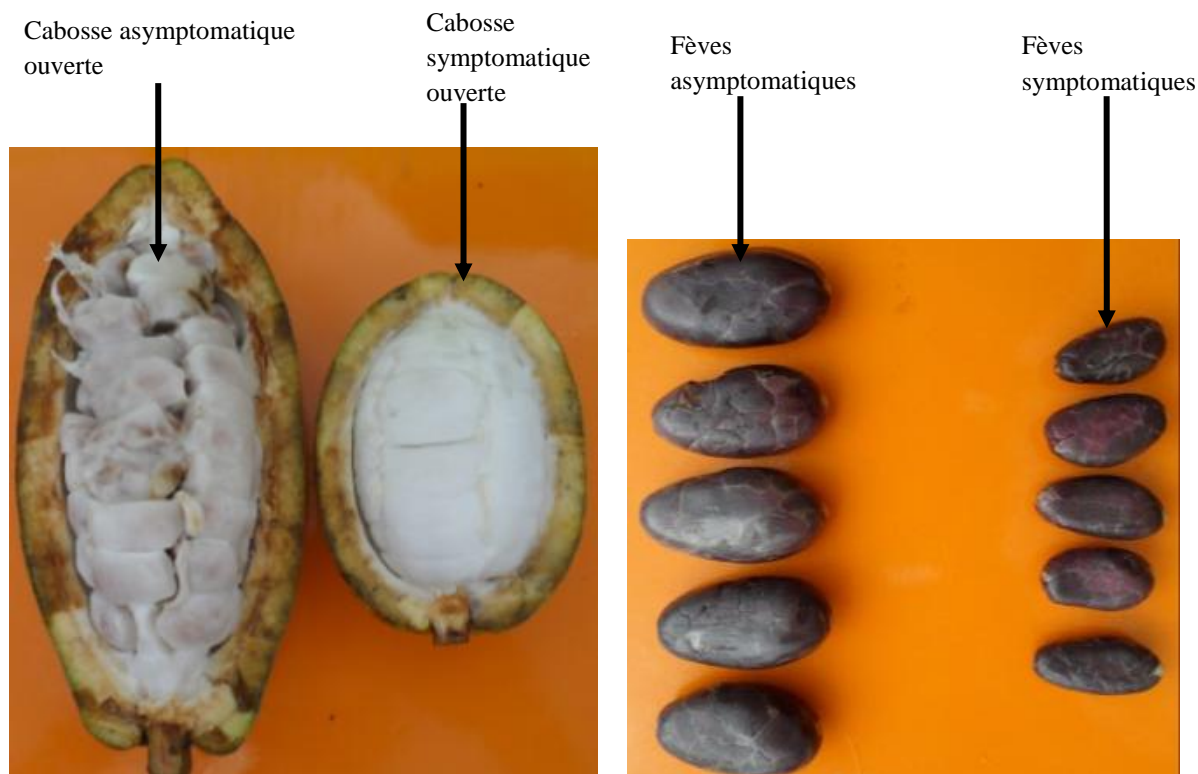


Figure 20 : Comparaison entre des fèves fraîches dépulpées issues de cabosses saines et de cabosses de cacaoyer atteintes de swollen shoot

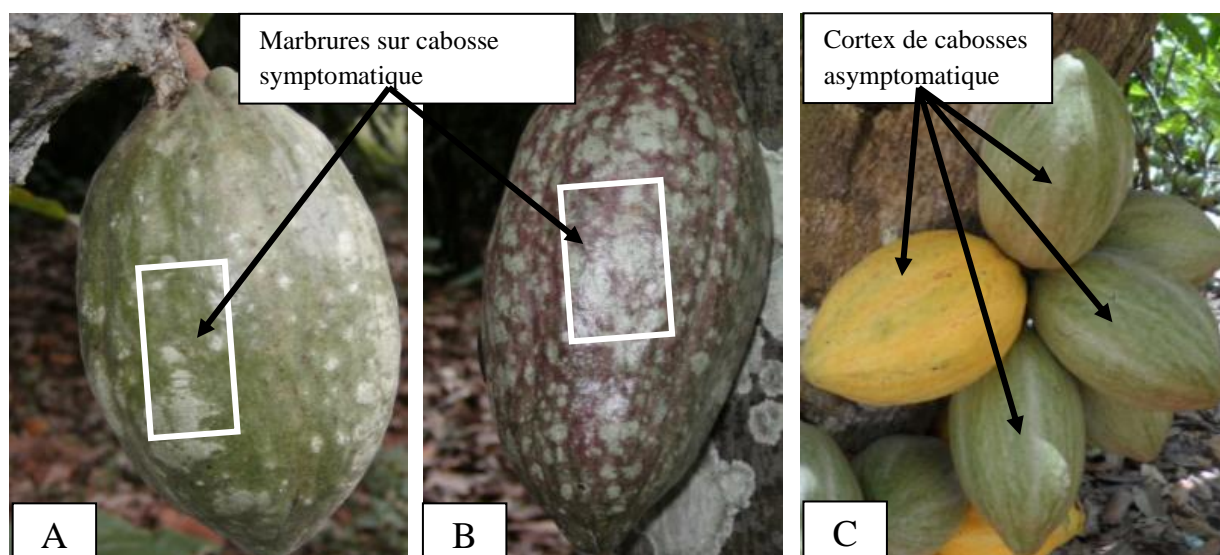


Figure 21 : Différents types de marbrures observées sur le cortex de cabosses non mûres de cacaoyers atteints de swollen shoot.

(A) marbrures verdâtres ; (B) marbrures rougeâtres ; (C) Aspect normal du cortex de cabosses saines non mûres à la station de recherche de Divo.

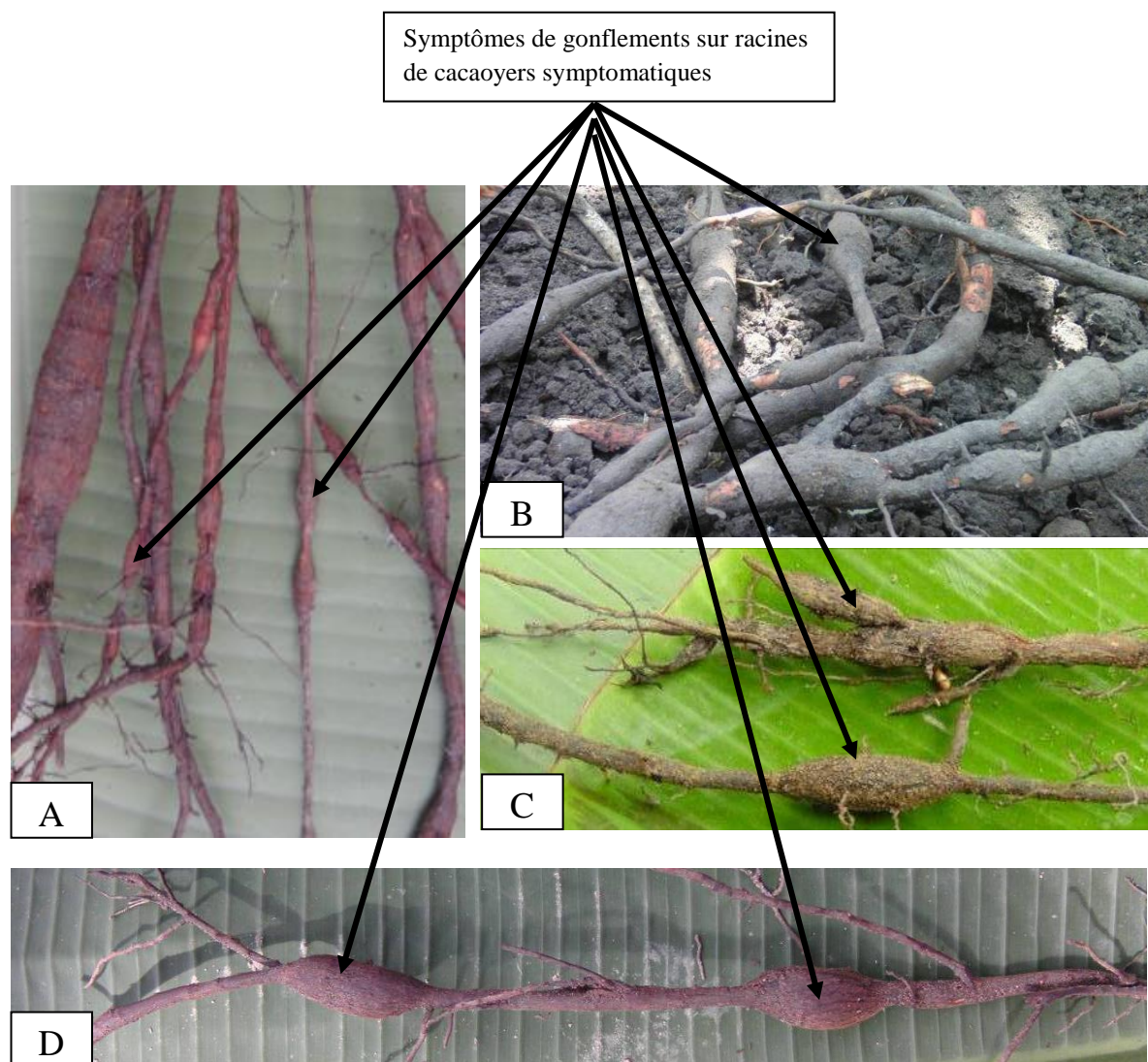


Figure 22 (A, B, C et D) : Symptômes de gonflements sur racines de cacaoyers atteints de la maladie du swollen shoot.

6.1. 6 Particularités symptomatiques du swollen shoot

Tous les symptômes du swollen shoot décrits ci-dessus sur chacun des organes du cacaoyer ne s'observent pas à la fois ni sur un même arbre malade, ni dans une même parcelle. Des différences ont été observées dans l'expression des symptômes d'un foyer à l'autre et d'une localité à l'autre. Toutefois, il n'a pas été possible de lier les différences symptomatologiques à la diversité des isolats du CSSV dans les foyers. La classification des symptômes recensés en fonction des localités est indiquée dans le tableau V. Ces résultats montrent une combinaison de symptômes au champ qui varie d'un foyer à l'autre.



Figure 23 : Foyer de swollen shoot en phase initiale dans une parcelle à Grand-Zattry (Côte d’Ivoire). Dessèchement des rameaux, défoliation, jaunissement des feuilles et émergence d’adventices à l’intérieur du foyer.

Tableau V : Tableau récapitulatif des symptômes de swollen shoot recensés selon les localités

Type d'organe	Type de symptômes	Localités											
		Duékoué		Daloa	Grand-Zattry		Soubré	Divo		Sinfra		Abengourou	Agnibilékrou
Jeunes feuilles	Bandes Rouges	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Nécroses du limbe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Feuilles adultes	Mosaïques en "fougère"	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
	Mosaïques "réticulées"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	Chlorose du limbe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Nécroses du limbe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Rameaux	Gonflements des rameaux	discrets	discrets	fréquents	fréquents	fréquents	fréquents	très fréquents	très fréquents	discret	fréquents	Discrets	Discrets
	Dessèchement apical des rameaux	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cabosses	Forme arrondie et taille réduite	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Présence de marbrures sur le cortex	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Racines	Gonflements des racines	fréquents	pas de gonflement	fréquents	fréquents	rares	fréquents	très fréquents	très fréquents	Pas de gonflement	pas de gonflement	pas de gonflement	pas de gonflement
	Nécroses	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

(+) : présence

(-) : absence

6.2 DEGATS DU SWOLLEN SHOOT

6.2.1 Taux de mortalité des cacaoyers

Le taux de mortalité des cacaoyers dans les foyers a varié entre 9 % et 52 % (Tableau VI). Des cacaoyers dépéris ont été observés dans toutes les localités étudiées. Les localités d'Abengourou, Agnibilékrou, Grand-Zattry et Duékoué ont présenté les plus grands taux de dépérissement de cacaoyers. Toutefois, le plus faible taux de dépérissement a été enregistré à Sinfra (Figure 24). Dans chaque foyer, le nombre estimé de cacaoyers dépéris est compris entre 49 et 1000 en fonction de la densité de plantation. Pour l'ensemble des essais, le taux moyen de mortalité des cacaoyers a été de 27,76 %. Ce taux correspond à une superficie moyenne de 0,16 ha de cacaoyers dépéris par foyer avec une densité moyenne de 1814 cacaoyers / ha. Ainsi, le nombre moyen de cacaoyers dépéris estimé par foyer de swollen shoot a été de 291 pieds.

En supposant que chacune des 48 913 parcelles atteintes de swollen shoot recensées en Côte d'Ivoire comporte un seul foyer (Figure 25), une estimation minimale du nombre de cacaoyers dépéris au plan national serait de 14 233 683 soit l'équivalent de 7846,57 ha de cacaoyers détruits.

6.2.2 Prévalence du swollen shoot

Le taux de prévalence calculé a été compris entre 14 % et 42 % pour une moyenne de 26,97 %. Le taux de prévalence le plus élevé a été obtenu dans les plantations de l'Est (Abengourou et Agnibilékrou) comportant essentiellement des variétés tout-venant et âgées de 30 à 35 ans. Des taux de prévalence élevés ont aussi été notés à Sinfra, Duékoué et Divo dans des parcelles dont l'âge est compris entre 15 et 20 ans (Tableau VII). Les essais de Sinfra sont situés dans des replantations sur jachères après la dégradation des anciennes cacaoyères. Le classement des localités en fonction du taux de prévalence est similaire à celui du taux de mortalité ci-dessus à l'exception de la localité de Sinfra. Dans cette localité, un taux de prévalence très élevé a été enregistré (30.19 %) pour très peu de cacaoyers dépéris (15,81%).

Tableau VI : Taux de mortalité et nombre de cacaoyers dépéris dans les foyers

Localités	Nom du planteur	Superficie de l'essai (ha)	Densité moyenne (pieds /ha)	Superficie de cacaoyers dépéris (ha)	Taux de mortalité (%)	Nombre de cacaoyers dépéris
Duékoué	Kondro Alexis	0,43	2200	0,10	23,53	221
	Houssou Konan	0,64	2900	0,24	36,96	688
Soubré	Simporé Drissa	1,06	2000	0,27	25,56	544
	Ouattara B.	0,30	1900	0,10	34,05	575
Grand-Zattry	Gnaoré Joachim	0,91	1900	0,47	51,58	890
	Amandê Diané	0,33	2000	0,05	16,45	107
Daloa	Touré	0,78	1800	0,08	9,74	137
	Ouédraogo	0,22	1600	0,10	46,78	167
Divo	Kentoré Arouna	0,63	1500	0,13	20,63	947
	Kouassi Yao	0,90	1600	0,26	28,55	409
	Nando Cyrille	0,30	1500	0,11	34,96	158
	Kokora Joseph	0,46	1400	0,06	14,16	91
Sinfra	Sawadogo	0,24	1500	0,03	13,50	49
	Kodjané Joseph	0,34	1320	0,06	18,12	81
Abengourou	Kouadio Oi.	0,90	1900	0,40	44,46	764
Agnibilékrou	Kpangny N.	0,52	2000	0,13	25,19	260

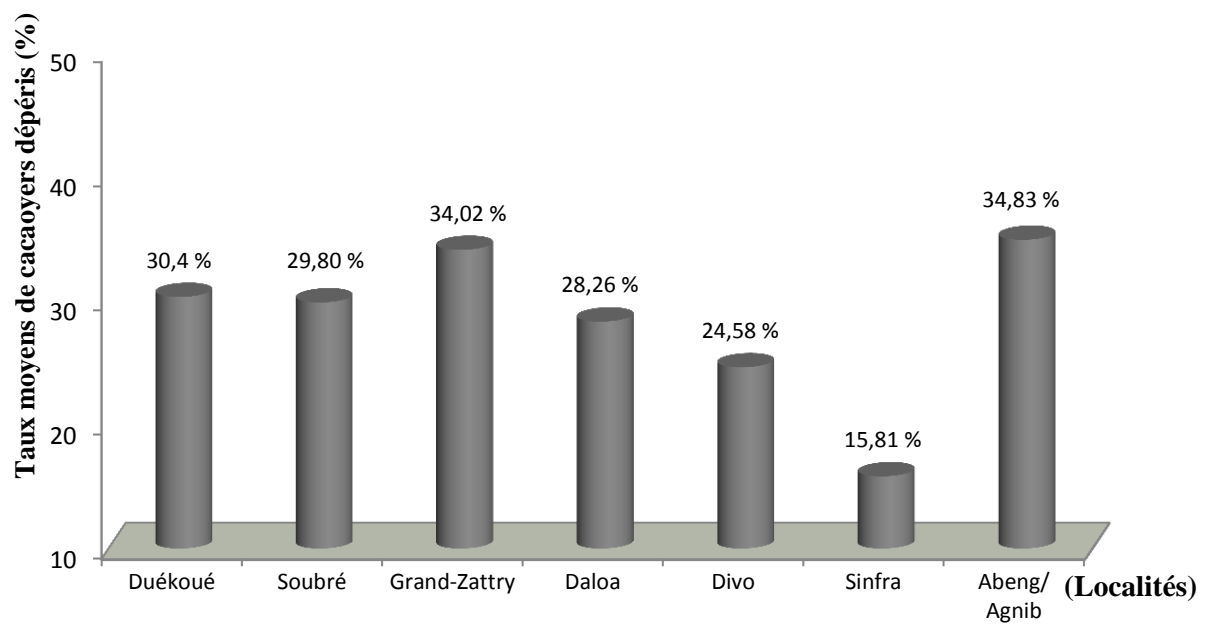


Figure 24 : Taux moyen de mortalité de cacaoyers dans les foyers selon les localités

Dans les localités de l'ouest et du sud-ouest, la maladie semble en début d'évolution, d'où les faibles taux de prévalence enregistrés. Toutefois, il est difficile d'établir une relation entre la prévalence du swollen shoot dans les parcelles étudiées et les isolats de CSSV à cause du facteur temps et de la diversité des variétés de cacaoyers utilisées en milieu paysan. En considérant à la fois les 48 913 parcelles recensées et la prévalence moyenne correspondant à 198 cacaoyers malades par parcelle, le nombre actuel de cacaoyers au champ atteints de swollen shoot au plan national pourrait être estimé à 9 684 774 arbres.

6.2.3 Incidence du swollen shoot sur les cacaoyers dans les foyers

Le taux d'incidence, calculé pour la période d'observation de 7 mois allant d'août 2009 à mars 2010, donne une idée de la vitesse d'évolution de la maladie dans les foyers. Les taux obtenus sont compris entre 3,93 % et 12,45 % pour une moyenne de 7,71%. La plus grande vitesse d'évolution de la maladie a été obtenue à Sinfra (12,45%) et à Abengourou / Agnibilékro. (12,13 %), Tableau VIII. Le plus faible taux d'incidence a été noté à Daloa (3,93 %). Toutefois, la phase de latence de certains cacaoyers infectés peut expliquer cette différence de vitesse d'évolution dans les foyers.

Les localités de l'Ouest (Duékoué, Daloa) et du Sud-ouest (Soubré, Grand-Zattry, Divo) ont présenté des vitesses d'évolution relativement élevée. Ce résultat montre que la maladie semble atteindre le seuil de sa phase exponentielle d'évolution dans ces régions.

En considérant l'incidence moyenne de 7,71 % correspondant à environ 42 nouveaux cas par parcelle, le nombre total des nouveaux cacaoyers symptomatiques au plan national a été estimé à 2 054 346 cacaoyers.

La proportion des cacaoyers symptomatiques dans les foyers en fonction de leur distance par rapport au centre du foyer a été calculée (Tableau IX). Le plus grand nombre de cacaoyers symptomatiques est situé dans un rayon de 5 m autour du foyer tandis que les 2/3 sont regroupés dans les 10 m. Au-delà des 20 m du foyer, la proportion de cacaoyers symptomatiques a été faible (Figure 26).

Tableau VII : Taux de prévalence du swollen shoot du cacaoyer en Côte d'Ivoire.

Localités	Tranche d'âge (années)	Précédent cultural	Cacaoyers observés	Cacaoyers malades	Taux de Prévalence (%)
Duékoué	15-20	Forêt	1891	581	30,72
Soubré	15-20	Forêt	1963	347	17,68
Grand-Zattry	30-35	Forêt	1380	199	14,42
Daloa	15-20	Forêt	1462	341	23,32
Divo	25-30	Forêt	2619	752	28,71
Sinfra	10-15	Jachère	679	205	30,19
Abengourou/ Agnibilékro.	30-35	Forêt	1725	736	42,67
Total /Moyenne	-	-	11719	3161	26,97



Figure 25 : Cacaoyers morts dans des parcelles atteintes du swollen shoot en Côte d'Ivoire.

(A) Dégâts du swollen shoot à Duékoué. **(B)** : Dégâts du swollen shoot à Soubré

Tableau VIII : Taux d'incidence du swollen shoot dans quelques localités en Côte d'Ivoire.

Localités	Cacaoyers observés	Cacaoyers initialement malades	Nouveaux cacaoyers malades	Taux d'incidence (%)
Duékoué	1891	581	98	7,48
Soubré	1963	347	89	5,51
Grand-Zattry	1380	199	85	7,20
Daloa	1462	341	44	3,93
Divo	2619	752	165	8,84
Sinfra	679	205	59	12,45
Abengourou/ Agnibilékrou	1725	736	120	12,13
Total/ Moyenne	11 719	3 161	660	7,71

Tableau IX : Répartition des cacaoyers malades autour du foyer de swollen shoot

Localités	Cacaoyers malades par secteur autour du foyer (%)				
	rayon de 5 m	entre 5 et 10 m	entre 10 et 15 m	15 et 20 m	au delà de 20 m
Duékoué	47,1	25,06	15,02	8,01	4,8
Soubré	59,93	13,6	10,66	9,93	5,88
Grand-Zattry	40,62	24,21	19,77	10,87	4,54
Daloa	28,3	25,4	24,12	17,36	4,82
Divo	43,32	29,44	11,6	8,84	6,8
Sinfra	34,72	8,63	17,65	8,63	6,86
Abengourou/ Agnibilékrou	32,95	16,18	15,03	13,87	21,97

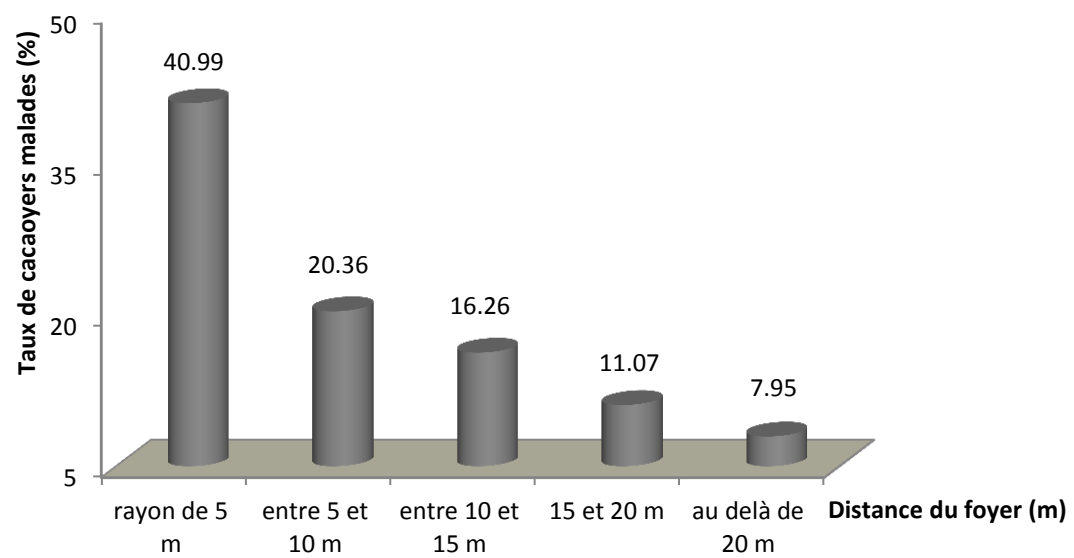


Figure 26 : Proportion de cacaoyers atteints de swollen shoot en fonction de leur distance au foyer de la maladie.

6.3 IMPACT DU SWOLLEN SHOOT SUR LA PRODUCTION ET LA QUALITE DES FEVES EN MILIEU PAYSAN

6.3.1 Influence du swollen shoot sur la production de cabosses

6.3.1.1 Réduction du nombre de cabosses sur les cacaoyers autour des foyers

Au cours de la période d'observation, le nombre cumulé de cabosses sur les cacaoyers autour des foyers dans l'ensemble des 16 sites a varié entre 1 et 47. L'analyse de variance du nombre de cabosses n'a pas révélé de différence significative par localité et par secteur autour du foyer sauf à Divo et à Sinfra (Tableau X).

A Divo, le test de Newman et Keuls au seuil de 5 % a mis en évidence trois groupes de secteurs au fur et à mesure qu'on s'éloigne du centre du foyer. Il s'agit d'une part des témoins ayant un nombre élevé de cabosses et d'autre part les secteurs 1 et 2 et les secteurs 3 à 10 comportant un nombre réduit de cabosses.

A Sinfra, trois groupes statistiques ont été également observés : le groupe des cacaoyers témoins, les secteurs 1 à 7 d'une part et les secteurs 8 à 10 d'autre part. Ce résultat signifie que le nombre de cabosses sur les cacaoyers autour du foyer semble fortement dépendre de leur position par rapport au centre du foyer.

La réduction du nombre de cabosses a été de 63 % dans le cas des cacaoyers des secteurs 1 à 3 en comparaison aux témoins (Tableau XI). Cette réduction a atteint 50 % dans les secteurs 4 à 5 (Figure 27).

6.3.1.2 Réduction du poids moyen des cabosses

Les poids des cabosses mesurées autour des foyers dans les 16 essais ont varié entre 179,25 et 647,0 g. L'analyse de variance n'a pas montré de différence significative du poids des cabosses par localité et par secteur à l'exception de la localité de Divo (Tableau XII). La réduction du poids des cabosses a été plus accentuée sur les cabosses des cacaoyers de secteurs 1 à 3 de toutes les localités sauf à Soubré (Tableau XIII). Les localités de Daloa, Duékoué, Abengourou, Agnibilékrou et Divo ont montré les plus grands taux de réduction de poids des cabosses sur les cacaoyers les plus proches du foyer. Les poids des cabosses sont devenus plus petit lorsqu'on s'approche du centre du foyer. Le poids moyen des témoins a été de 498,17 g contre 418,95 g pour les cabosses des secteurs 1 à 3 (Figure 28).

Tableau X : Nombre de cabosses sur les cacaoyers par localité et par secteur autour du foyer de swollen shoot

Localités	Secteurs autour du centre du foyer										Témoins
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Duékoué	8,0 a*	9,0 a	10,5 a	7,5 a	8,5 a	10,0 a	7,5 a	7,5 a	8,0 a	14,5 a	15,0 a
Soubéré	5,0 a	15,0 a	15,0 a	18,0 a	12,0 a	11,5 a	22,0 a	19,5 a	18,5 a	28,5 a	26,0 a
Grand-zattry	7,5 a	10,0 a	12,5 a	12,0 a	15,0 a	15,5 a	14,0 a	18,0 a	17,5 a	14,5 a	23,5 a
Daloa	13,0 a	25,0 a	12,5 a	27,0 a	14,0 a	27,0 a	29,0 a	24,0 a	20,5a	23,0 a	25,0 a
Divo	7,0 b	7,0 b	14,0 ab	15,5 ab	20,0 ab	21,0 ab	21,0 ab	18,5 ab	17,5 ab	19,5 ab	33,0 a
Sinfra	6,0 b	5,0 b	13,0 b	12,0 b	8,0 b	10,0 b	12,0 b	17,5 ab	16,5 ab	20,5 ab	31,0 a
Abengourou/ Agnibilékrou	6,5 a	6 a	3,5 a	11,5 a	8,0 a	11,0 a	9,0 a	10,0 a	8,5 a	16,0 a	19,0 a

* Les chiffres affectés de la même lettre par ligne d'une part et par colonne d'autre part ne sont pas significativement différents.

Tableau XI : Pourcentage de réduction du nombre de cabosses sur les cacaoyers autour du foyer de swollen shoot par secteur et par localité en Côte d'Ivoire.

Localités	Pourcentage de réduction du nombre de cabosses par rapport aux témoins (%)		
	secteurs 1 à 3	Secteurs 4 à 5	Secteurs 6 à 10
Duékoué	48	48	38
Soubré	55	50	23
Grand-Zattry	57	51	32
Daloa	55	50	28
Divo	72	62	41
Sinfra	74	71	51
Abengourou/Agnibilékrou	72	63	43
Moyenne par secteur	63	58	37
Moyenne générale	47,5		

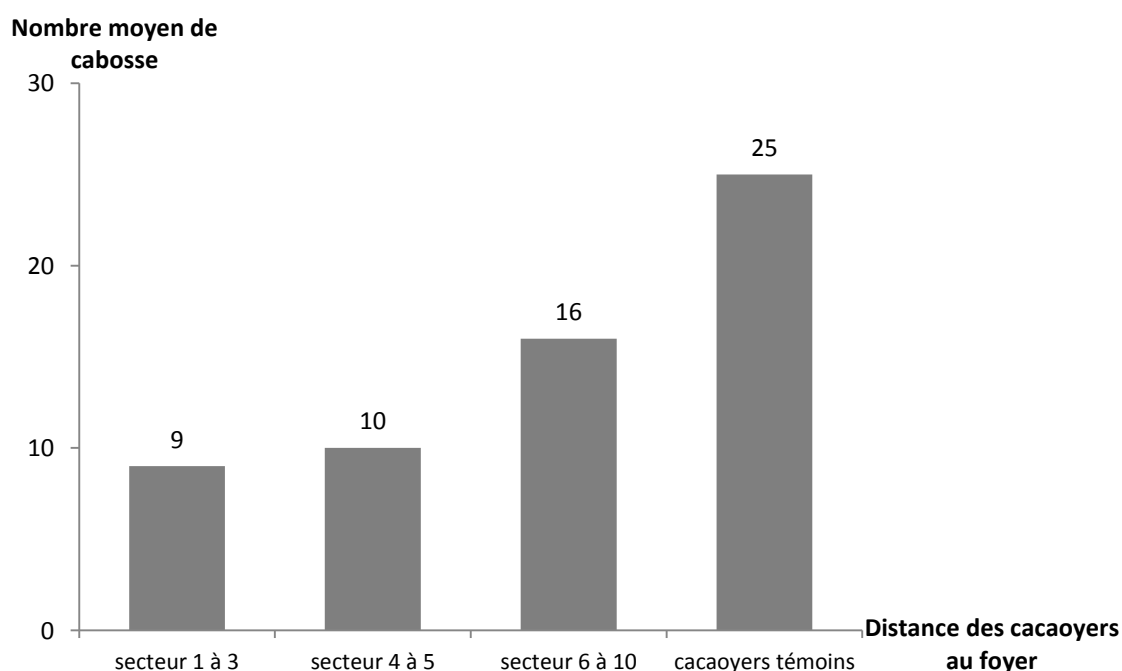


Figure 27 : Nombre moyen de cabosses sur les cacaoyers en fonction des secteurs autour des foyers de swollen shoot

Tableau XII : Poids de cabosses de cacaoyers par localité et par secteur autour du foyer de swollen shoot

Localités	Secteurs autour du centre du foyer										Témoins
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Duékoué	373,72 a	457,46 a	484,64 a	527,63 a	460,38 a	480,77 a	539,17 a	141,33 a	375,05 a	479,39 a	512,27 a
Soubré	511,80 a	519,17 a	533,09 a	477,86 a	467,80 a	580,90 a	440,13 a	577,84 a	449,38 a	547,48 a	505,25 a
Grand-zattry	463,74 a	402,80 a	505,27 a	518,27 a	510,27 a	413,65 a	563,17 a	410,13 a	383,04 a	465,92 a	497,03 a
Daloa	510,8 a	499,7 a	453,6 a	523,7 a	400,8 a	491,1 a	615 a	478,3 a	529,3 a	554,9 a	465,6 a
Divo	393,29 ab	404,75 ab	444,59 ab	433,06 ab	274,10 b	339,70 ab	505,52 ab	330,61 ab	440,55 ab	601,09 a	510,69 ab
Sinfra	524,94 a	444,99 a	440,58 a	470,91 a	486,53 a	463,87 a	481,77 a	472,56 a	416,37 a	471,60 a	516,39 a
Abengourou/ Agnibilékrou	341,08 a*	382,36 a	398,17 a	428,28 a	351,52 a	403,44 a	456,13 a	449,86 a	421,68 a	374,16 a	479,95 a

* Les chiffres affectés de la même lettre par ligne d'une part et par colonne d'autre part ne sont pas significativement différents.

Tableau XIII : Réduction du poids des cabosses de cacaoyers par le swollen shoot

Localités	Pourcentage de réduction de poids entre cabosses des secteurs et témoins (%)		
	secteurs 1 à 3	Secteurs 3 à 4	Secteurs 6 à 10
Duékoué	27	8	11
Soubré	-	1	-
Grand-Zattry	8	3	10
Daloa	31	-	-
Divo	19	24	9
Sinfra	9	8	11
Abengourou/Agnibilékrou	22	21	12
Moyenne par secteur	16	9	6
Moyenne générale		7,5	

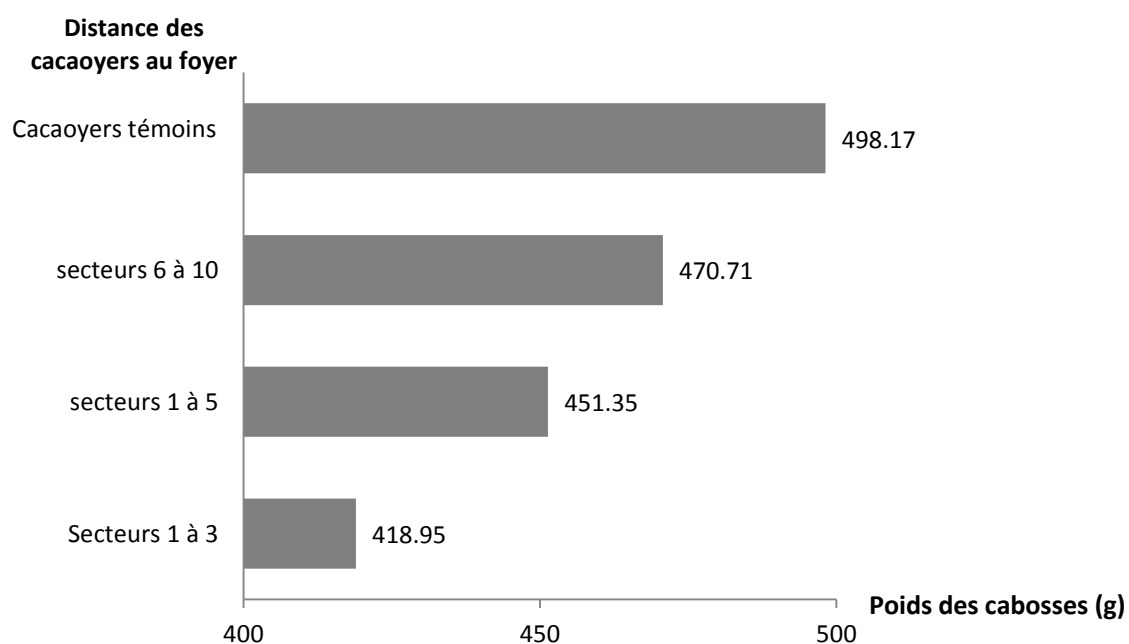


Figure 28 : Poids moyen de cabosses sur les cacaoyers autour de foyers de swollen shoot

6.3.1.3 Réduction du volume moyen des cabosses

Le test de Newman et Keuls au seuil de 5 % n'a pas montré de différence significative pour le volume des cabosses ni par secteur ni par localité (Tableau XIV). Une réduction du volume des cabosses a été observée dans les trois premiers secteurs autour du foyer. Cette diminution du volume des cabosses a été plus marquée dans les parcelles de Daloa (39 %), Abengourou/Agnibilékrou (26 %) et Duékoué (25 %) (Tableau XV). Le taux de réduction moyenne du volume des cabosses par rapport aux témoins a été de 16 % dans les secteurs 1 à 3. Les cabosses des secteurs 1 à 3 ont eu en moyenne un volume de 0,43 dm³ contre 0,51 dm³ pour les témoins. Le volume des cabosses a diminué lorsqu'on se rapproche du centre du foyer (Figure 29).

6.3.2 Influence du swollen shoot sur la qualité des fèves

6.3.2.1 Poids de 100 fèves

Dans l'ensemble des 16 parcelles, le poids de 100 fèves fraîches de cacao non déulpées a varié entre 188,18 et 413 g. Les analyses de variances n'ont pas révélé de différence significative ni par localité, ni par secteur autour du foyer (Tableau XVI). Les localités les plus touchées par la réduction du poids des fèves ont été Daloa (26 %), Duékoué (19 %) et Sinfra (15 %). La moyenne générale de réduction du poids de fèves pour l'ensemble des localités a été de 8 % alors que ce chiffre a atteint 11% dans les secteurs 1 à 3 (Tableau XVII). Le poids moyen de 100 fèves fraîches dans les 16 parcelles a été de 298,29 g pour les témoins contre 265,03 g pour les secteurs 1 à 3 (Figure 30).

6.3.2.2 Nombre de fèves défectueuses dans les cabosses

Le nombre de fèves défectueuses dans toutes les cabosses mesurées est compris entre 0 et 20. Aucune différence significative n'a été observée ni par localité ni par secteur autour du foyer dans les 16 parcelles d'étude (Tableau XVIII). Pour l'ensemble des parcelles, le nombre de fèves défectueuses a été élevé dans les cabosses des secteurs autour du foyer par rapport aux témoins. Dans les localités de Duékoué, Daloa, Divo et Sinfra, ce nombre est passé du simple au double entre les cabosses des secteurs 4 à 5 et les témoins (Figure 31).

Tableau XIV : Volume (dm³) calculé des cabosses de cacaoyer par localité et par secteur autour d'un foyer de swollen shoot

Localités	Secteurs autour du centre du foyer										Témoins
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Duékoué	0,34 a	0,47 a	0,47 a	0,48 a	0,52 a	0,49 a	0,56 a	0,41 a	0,36 a	0,46 a	0,49 a
Soubré	0,51 a	0,54 a	0,53 a	0,53 a	0,52 a	0,60 a	0,43 a	0,60 a	0,48 a	0,56 a	0,54 a
Grand-zattry	0,48 a	0,39 a	0,50 a	0,50 a	0,57 a	0,44 a	0,60 a	0,41 a	0,37 a	0,46 a	0,48 a
Daloa	0,50 a	0,46 a	0,46 a	0,50 a	0,39 a	0,48 a	0,60 a	0,52 a	0,54 a	0,56 a	0,52 a
Divo	0,43 a	0,46 a	0,39 a	0,42 a	0,27 a	0,40 a	0,52 a	0,28 a	0,46 a	0,64 a	0,48 a
Sinfra	0,55 a	0,47 a	0,47 a	0,48 a	0,49 a	0,49 a	0,50 a	0,47 a	0,44 a	0,47 a	0,52 a
Abengourou/ Agnibilékro	0,35 a	0,43 a	0,37 a	0,45 a	0,38 a	0,42 a	0,48 a	0,50 a	0,43 a	0,38 a	0,51 a

* Les chiffres affectés de la même lettre par ligne d'une part et par colonne d'autre part ne sont pas significativement différents.

Tableau XV : Réduction du volume de cabosses de cacaoyer par le swollen shoot

Localités	Pourcentage de réduction de volume entre cabosses des secteurs et témoins (%)		
	secteurs 1 à 3	Secteurs 4 à 5	Secteurs 6 à 10
Duékoué	25	5	7
Soubré	3	3	2
Grand-Zattry	5	-	6
Daloa	39	13	-
Divo	11	18	5
Sinfra	4	5	8
Abengourou/Agnibilékrou	26	23	14
Moyenne par secteur	16,14	11,16	7
Moyenne générale	9,08		

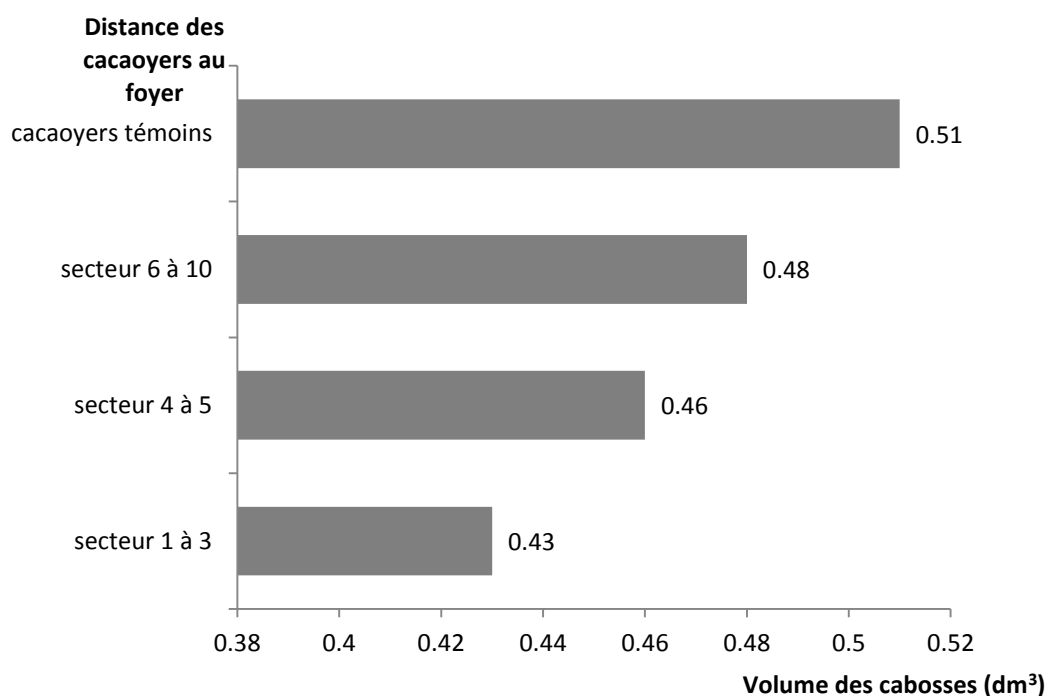


Figure 29 : Volume moyen de cabosses en fonction de la distance des cacaoyers par rapport au foyer de swollen shoot

Tableau XVI : Poids (g) de 100 fèves de cacao par localité et par secteur autour du foyer de swollen shoot

Localités	Secteurs autour du centre du foyer										Témoins
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Duékoué	299,73 a	283,10 a	302,14 a	375,13 a	315,43 a	279,79a	287,78 a	278,77 a	277,0 a	33,28 a	304,04 a
Soubré	304,09 a	273,69 a	303,56 a	288,80 a	293,11 a	298,92 a	271,96 a	300,49 a	282,66 a	301,61 a	314,36 a
Grand-zattray	296,87 a	281,31 a	320,32 a	346,54 a	335,16 a	267,10 a	301,59 a	273,01 a	275,41 a	315,18 a	298,99 a
Daloa	339,2 a	280,30 a	290,10 a	268,0 a	302,60 a	229,40 a	316,40 a	267,80 a	323,80 a	315,0 a	271,50 a
Divo	265,06 a	268,71 a	281,82 a	254,02 a	280,80 a	288,59 a	318,35 a	264,97 a	291,11 a	291,51 a	298,54 a
Sinfra	295,0 a	252,32 a	301,56 a	292,77 a	305,34 a	270,69 a	299,11 a	288,05 a	324,29 a	393,88 a	334,45 a
Abengourou/ Agnibilékro	243,66 a	267,30 a	275,48 a	278,44 a	257,84 a	251,58 a	246,28 a	293,85 a	259,85 a	235,46 a	266,19 a

* Les chiffres affectés de la même lettre par ligne d'une part et par colonne d'autre part ne sont pas significativement différents.

Tableau XVII : Réduction du poids de 100 fèves fraîches de cacao issues de foyer de swollen shoot en comparaison avec des témoins

Localités	Pourcentage de réduction par rapport aux témoins (%)		
	Secteurs 1 à 3	secteurs 4 à 5	secteurs 6 à 10
Duékoué	19	-	4
Soubré	7	7	7
Grand-Zattry	-	-	4
Daloa	26	-	-
Divo	9	10	3
Sinfra	15	13	12
Abengourou/Agnibilék.	2	1	3
Moyenne par secteur	11	10	6
Moyenne générale	8		

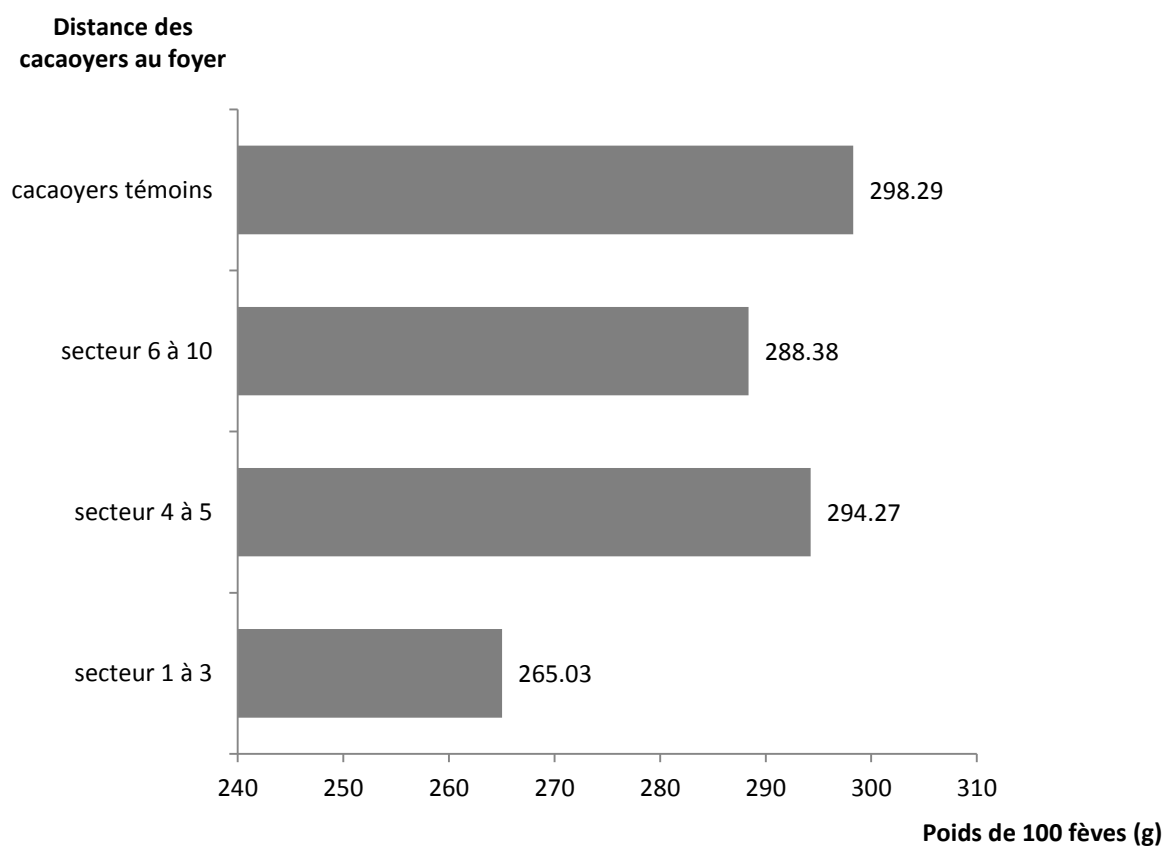


Figure 30 : Poids moyen de 100 fèves de cacao par cacaoyers autour de foyers de swollen shoot en comparaison avec des témoins

Tableau XVIII : Nombre de fèves de cacao défectueuses dans les cabosses par localité et par secteur autour du foyer de swollen shoot

Localités	Secteurs autour du centre du foyer										Témoins
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Duékoué	0,00 a	1,50 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,00 a	0,50 a	0,50 a	1,50 a	0,00 a
Soubré	0,50 a	0,00 a	0,00 a	1,00 a	0,50 a	0,50 a	1,00 a	1,00 a	0,00 a	0,50 a	0,00 a
Grand-zattray	0,50 a	0,00 a	0,00 a	0,50 a	0,50 a	0,00 a	0,00 a	1,00 a	0,5 a	0,00 a	0,00 a
Daloa	2,00 a	0,00 a	2,00 a	0,00 a	10,50 a	2,00 a	0,00 a	0,50 a	0,50 a	0,00 a	1,00 a
Divo	1,00 a	1,50 a	4,00 a	4,00 a	2,50 a	1,00 a	2,50 a	1,00 a	0,50 a	1,00 a	1,00 a
Sinfra	1,00 a	0,00 a	0,50 a	0,5 a	1,00 a	0,00 a	0,00 a	1,00 a	0,00 a	2,00 a	0,00 a
Abengourou/ Agnibilékrou	0,50 a	1,00 a	0,00 a	1,50 a	2,00 a	0,50 a	0,00 a	2,00 a	0,5 a	0,50 a	1,00 a

* Les chiffres affectés de la même lettre ne sont pas significativement différents.

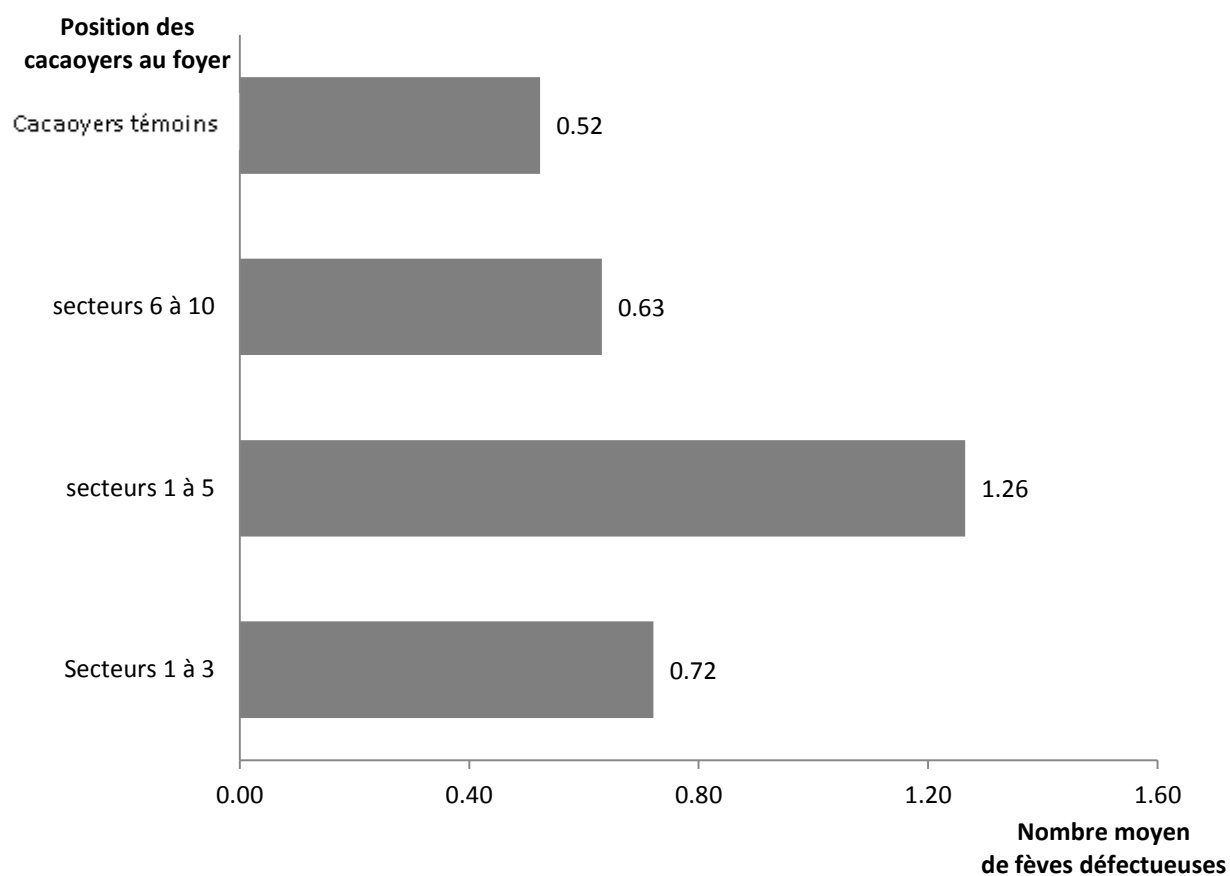


Figure 31 : Nombre moyen de fèves de cacao défectueuses par cabosse autour de foyers de swollen shoot en comparaison avec des témoins

6.3.3 Estimation des pertes de production de cacao au champ

Le poids moyen des fèves fraîches normales dans les cabosses malades a été de 58,87 g contre 99,97 g dans les cabosses témoins soit une réduction de 58,88 %. Le nombre moyen cumulé de cabosses par cacaoyers témoins a été de 25 cabosses pour une densité moyenne de 1841 pieds / ha. Au regard des données de production de cabosses obtenues au champ sur la période d'étude, 1 ha de cacaoyers témoins fournirait en moyenne une production (P_T) de fèves de cacao équivalent à :

P_T (g) = poids des fèves /cabosse x nombre de cabosses / cacaoyers x nombre de cacaoyers/ha ;

Application numérique : P_T (g) = 99,97 x 25 x 1841 d'où $P_T = 4\,533\,639,5$ g

En appliquant le taux de mortalité de 27,6 % (Cf. p. 70) dans un hectare de cacaoyers au champ ayant un foyer de swollen shoot, le nombre de cacaoyers morts serait de 504 pieds. Le nombre de cacaoyers atteints de swollen shoot dans le foyer serait de 353 pieds ou $(1841 - 504) \times 26,97$ % (Cf. p. 70) et fournirait une production (P_{Ma}) de fèves de cacao estimée à : $P_{Ma} = 58,87 \times 9 \times 353$. Soit $P_{Ma} = 187\,029,99$ g. Le nombre de cacaoyers supposés sains dans cette parcelle serait de 957 pieds ou $(1841 - 504 - 353)$ et fournirait une production (P_S) estimée à : $P_S = 99,97 \times 25 \times 957$, soit $P_S = 2\,391\,782,25$ g.

La production de cacao dans 1 ha de cacaoyer en milieu paysan possédant un foyer de swollen shoot serait alors de :

$P_{Ma} + P_S = 2\,578\,812,24$ g, soit une réduction de 56,88 % de production de fèves fraîches de cacao par rapport à P_T estimée à 1 954 827,26 g de perte de production annuelle. Ce résultat signifie que le swollen shoot provoquerait une réduction irréversible de plus de la moitié de production de cacao en milieu paysan.

Conclusion partielle

Les résultats de cette étude épidémiologique ont été obtenus dans un intervalle de temps assez court (moins d'une année). Toutefois, cette étude a permis de relever d'importants aspects de la manifestation du swollen shoot en milieu paysan. Premièrement, l'existence de plusieurs symptômes associés au développement de la maladie a été mise en évidence. Parmi, les symptômes décrits, les bandes rouges sur jeunes feuilles ont été notées dans tous les foyers tandis que les gonflements de rameaux et de racines ont été observés dans des foyers présentant de nombreuses mortalités. Même si d'une façon générale, les symptômes du swollen shoot au champ ont varié d'un foyer à l'autre, leur connaissance est d'une importance majeure pour la formation et la sensibilisation des vulgarisateurs et des paysans en vue d'une intervention rapide et efficace.

Deuxièmement, l'évaluation des dégâts a relevé un taux de mortalité et de prévalence respectivement de 27,6 %, et de 26,97 % dans les foyers de la maladie. Les estimations ont permis de relever qu'au moins 12 millions de cacaoyers ont été infectés par le virus du swollen shoot avec une vitesse annuelle d'évolution de 7,71 % dans les foyers. Les résultats ont aussi indiqué qu'en milieu paysan au moins la moitié de la production des cacaoyers (58,86 %) autour des foyers de la maladie a été perdue de manière irréversible.

Troisièmement, une influence négative du swollen shoot sur l'ensemble des paramètres de production étudiés notamment le nombre de cabosses et le poids des fèves a été mise en évidence. Cette influence a été plus accentuée sur les cacaoyers situés dans un rayon de 10 m autour du foyer avec un taux de réduction du nombre de cabosses variant entre 58 % et 63 % par rapport aux cacaoyers témoins éloignés du centre du foyer.

CHAPITRE VII : DETECTION ET DIVERSITE DU CSSV

Face à la recrudescence de la maladie du swollen en Côte d'Ivoire, il est important de prendre en compte la résistance au CSSV parmi les critères de sélection du matériel végétal. Ainsi, la connaissance de la diversité du CSSV dans les foyers de la maladie présente un enjeu important car elle permettrait de mettre en évidence la variabilité génétique du virus en vue des tests de sélection pour l'obtention d'un matériel végétal performant et de résistance durable au virus. Les résultats présentés dans ce chapitre ont été obtenus à partir d'analyse d'échantillons de feuilles de cacaoyers infectés par le virus du swollen shoot (Cf. p. 47) collectés dans les principaux foyers de la maladie en Côte d'Ivoire (Cf. p. 36). Les méthodes d'analyse ont été essentiellement basées sur la phylogénie moléculaire à partir de séquences partielles d'ADN obtenues dans la première partie de l'ORF3 du génome viral (Cf. p. 50). Ce chapitre présente les résultats portant sur la détection du *Cocoa swollen shoot virus*, la diversité moléculaire du CSSV et la distribution géographique de la variabilité moléculaire du CSSV en Côte d'Ivoire.

7.1. DETECTION DU CSSV PAR PCR

7.1.1 Efficacité du couple d'amorces ORF3CSSV F/R pour la détection du CSSV

La capacité de détection du CSSV avec le couple d'amorces ORF3CSSV-F/R a été évaluée avec 355 échantillons provenant de 63 parcelles. La présence du virus dans les échantillons a été déterminée par l'amplification d'une bande à la taille attendue de 724 pb après migration sur gel d'agarose 1% (Figure 32). Les résultats du diagnostic avec ce couple d'amorce indiquent que le CSSV a été détecté seulement dans 46 % des échantillons (Tableau XIX). Il a été noté que 54 % des échantillons analysés n'ont pu être détectés alors que ceux-ci présentaient tous les symptômes de bandes rouges, caractéristiques de la maladie. Des tests d'optimisation de la PCR portant sur la variation de la quantité de l'ADN, la technique hot-start, le changement de la Taq polymérase ont été réalisés et n'ont pas permis d'améliorer le diagnostic avec le couple d'amorce ORF3CSSV-F/R. La méthode d'extraction de l'ADN total n'a pas eu d'effet sur la détection du CSSV par le couple d'amorces ORF3CSSV F/R.

Le taux de détection a été de 73 % au niveau des parcelles au regard des parcelles ayant eu au moins un échantillon détecté avec ce couple d'amorces. Au total 17 parcelles n'ont eu aucun échantillon détecté avec ces amorces (Tableau XX).

7.1.2 Mise au point de nouvelles amorces ORF3A-F/R pour la détection du CSSV

De nouvelles amorces (ORF3A-F/R) ont été dessinées pour améliorer la détection du CSSV par PCR. Ces amorces ont été obtenues à partir de l'alignement des séquences nucléotidiques de 724 pb de la région codante ORF3 des groupes A, B et C du CSSV avec celles de la même portion obtenues en 2009 après séquençage des isolats de Côte d'Ivoire (Cf. Annexes, numéros d'accension JN606111 à JN606166). Ce couple d'amorces correspond aux positions 1848 à 2381 de la séquence nucléotidique complète du génome de l'isolat Agou1 du CSSV (L14546) et permet d'amplifier un fragment de 534 pb ($T_m = 49^\circ \text{C}$) dans la région codante ORF3.

7.1.3 Efficacité des nouvelles amorces ORF3A-F/R pour la détection du CSSV

Le couple d'amorces ORF3A F/R a permis la détection du CSSV dans des échantillons de 10 sur les 17 parcelles dont aucun échantillon n'a pu être détecté avec le précédent couple d'amorces ORF3CSSV F/R. L'efficacité du couple d'amorces ORF3A-F/R a été évaluée sur 260 nouveaux échantillons de feuilles de cacaoyer provenant de 56 nouvelles parcelles infectées par le virus du swollen shoot. Cette fois-ci le taux de détection du virus dans les échantillons analysés a été de 63,5 % (Tableau XXI). Le CSSV est mieux détecté dans les échantillons par l'utilisation du couple d'amorces ORF3A-F/R comparativement au couple d'amorce ORF3CSSV-F/R (63,5 % contre 46,2 %).

Au niveau des parcelles échantillonnées dans cette 2^e phase, le taux de détection a été de 90 % (Tableau XXII). Le pourcentage de parcelles ayant au moins un échantillon détecté avec ORF3A-F/R est supérieur à celui du précédent diagnostic avec ORF3CSSV-F/R (90 % contre 73 %). Ces résultats montrent que le diagnostic du CSSV avec ORF3A F/R est plus polyvalent que ORF3CSSV-F/R même si 36,5 % des échantillons n'ont pu être détectés.

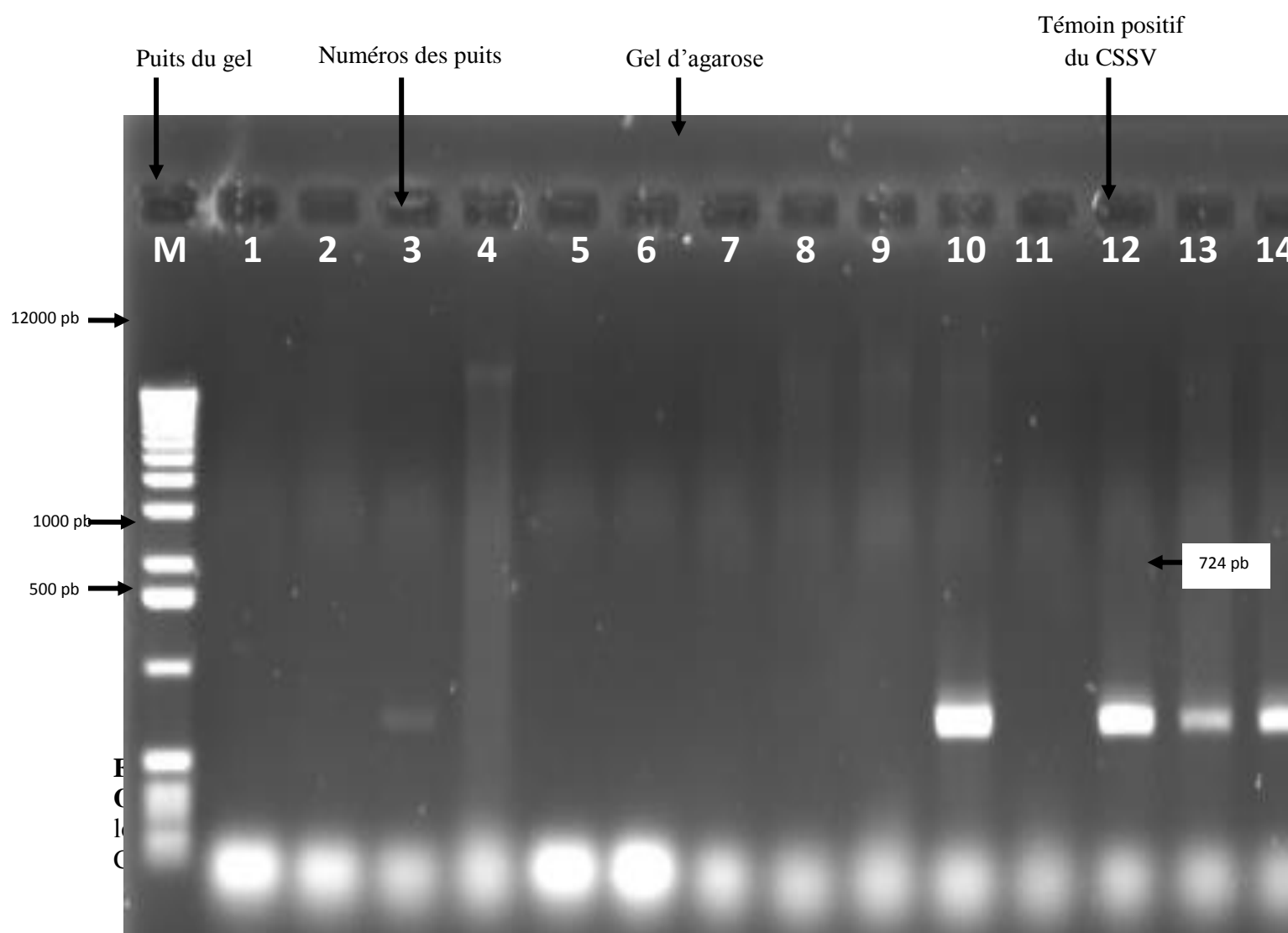


Tableau XIX : Taux des échantillons selon la prévalence du CSSV avec le couple d'amorces ORF3CSSV F/R

Echantillons	Prévalence du <i>Cocoa swollen shoot virus</i>		
	DéTECTÉS	Non détectés	Total
Effectifs	164	191	355
Taux des effectifs (%)	46, 20	53, 80	100

Tableau XX : Taux des parcelles selon la prévalence avec le couple d'amorces ORF3CSSV-F/R

Parcelles	Prévalence du <i>Cocoa swollen shoot virus</i>		
	DéTECTÉES	Non détectées	Total
Effectifs	46	17	63
Taux des effectifs (%)	73	27	100

Tableau XXI: Taux des échantillons selon la prévalence du CSSV avec le couple d'amorces ORF3A F/R

Echantillons	Prévalence du <i>Cocoa swollen shoot virus</i>		
	DéTECTÉS	Non détectés	Total
Effectifs	165	95	260
Taux des effectifs (%)	63,5	36,5	100

Tableau XXII: Effectifs des parcelles détectées avec le couple d'amorces ORF3A-F/R

Parcelles	Prévalence du <i>Cocoa swollen shoot virus</i>		
	DéTECTÉES	Non détectées	Total
Effectifs	50	6	56
Taux des effectifs (%)	90	10	100

7.2. DIVERSITE MOLECULAIRE DU *Cocoa swollen shoot virus*

7.2.1 Structure phylogénétique des séquences partielles ORF3 du CSSV obtenues après les premières analyses (2009)

l'alignement multiple ClustalW des séquences partielles ORF3 du CSSV obtenues à partir du couple d'amorces ORF3CSSV F/R a permis de regrouper les isolats sur la base du pourcentage d'identité lorsque celui-ci est supérieur à 80 % (Tableau XXIII). Le premier arbre phylogénétique Neighbor-Joining obtenu (Figure 33) a présenté une structuration en trois groupes phylogénétiques A, B, C. Les sous-groupes notés intermédiaires BC sur l'arbre ont présenté un ou deux isolats. Au total, 25 % des séquences partielles ORF3 obtenues se sont classés dans les groupes intermédiaires BC. Tous les isolats constituant ces groupes intermédiaires ont été collectés dans les foyers du centre-Ouest et de l'Ouest de la Côte d'Ivoire. Le groupe phylogénétique B a obtenu le grand taux de représentativité avec 75 % des séquences partielles ORF3. La majorité des foyers échantillonnés ont au moins un isolat classé dans le groupe B. De plus, tous les isolats prélevés dans les foyers à la frontière du Ghana se sont classés dans le groupe B. Des isolats des groupes phylogénétiques A et C n'ont pas été détecté parmi les échantillons analysés.

Les amorces ORF3A-F/R ont été dessinées à ce stade de l'étude en prenant en compte les premiers isolats de Côte d'Ivoire très divergents des isolats du Togo étudiés précédemment et qui avaient permis le design des amorces ORF3CSSVF/R. Ce deuxième couple d'amorces ORF3A-F/R correspond à des amorces internes aux premières, un peu plus dégénérées que celles-ci. L'utilisation de ce second couple d'amorces a permis d'obtenir de nouvelles séquences (numéros d'accès JN606171 à JN606178 en annexes) sur des échantillons négatifs auparavant, qui ont été intégrées aux premières pour construire un deuxième arbre phylogénétique (Figure 34), toujours basé sur la méthode de distance. Cet arbre permet la mise en évidence d'un nouveau groupe, le groupe D distant des groupes A, B et C.

De plus de nouveaux isolats se sont intercalés parmi les sous-groupes intermédiaires B-C. Le nombre des séquences ORF3 du groupe B a été plus élevé en comparaison de l'effectif des séquences ORF3 des autres groupes.

Tableau XXIII : Indice d'identité entre des séquences partielles ORF3 représentatives de la diversité moléculaire du CSSV obtenues avec le couple d'amorces ORF3CSSV F/R. Le pourcentage d'identité entre séquences est obtenu en multipliant l'indice par 100

Séquences partielles ORF3/Groupe de CSSV	CI71- 09 B	CI127- 09 B	CI175- 09 BC1	CI214- 09 B	CI230- 09 BC6	CI285- 09 BC2	To_Agou- L14546 C	GhaNJ- 00- AJ608931 B	ToW12_JN165137 A
CI71-09/B		0, 91	0, 86	0, 92	0, 81	0, 86	0,80	0, 93	0, 75
CI127-09/B			0, 79	0, 85	0, 74	0, 79	0, 75	0, 86	0, 70
CI175-09/BC1				0,86	0,86	0,86	0,77	0,84	0,72
CI214-09/B					0,81	0,85	0,80	0,91	0,75
CI230-09/BC6						0,81	0,77	0,79	0,72
CI285-09/BC2							0,78	0,83	0,72
To_Agou-L14546/C								0,85	0,80
GhaNJ-00-AJ608931/B									0,80
ToW12_ORF3_JN165137/A									

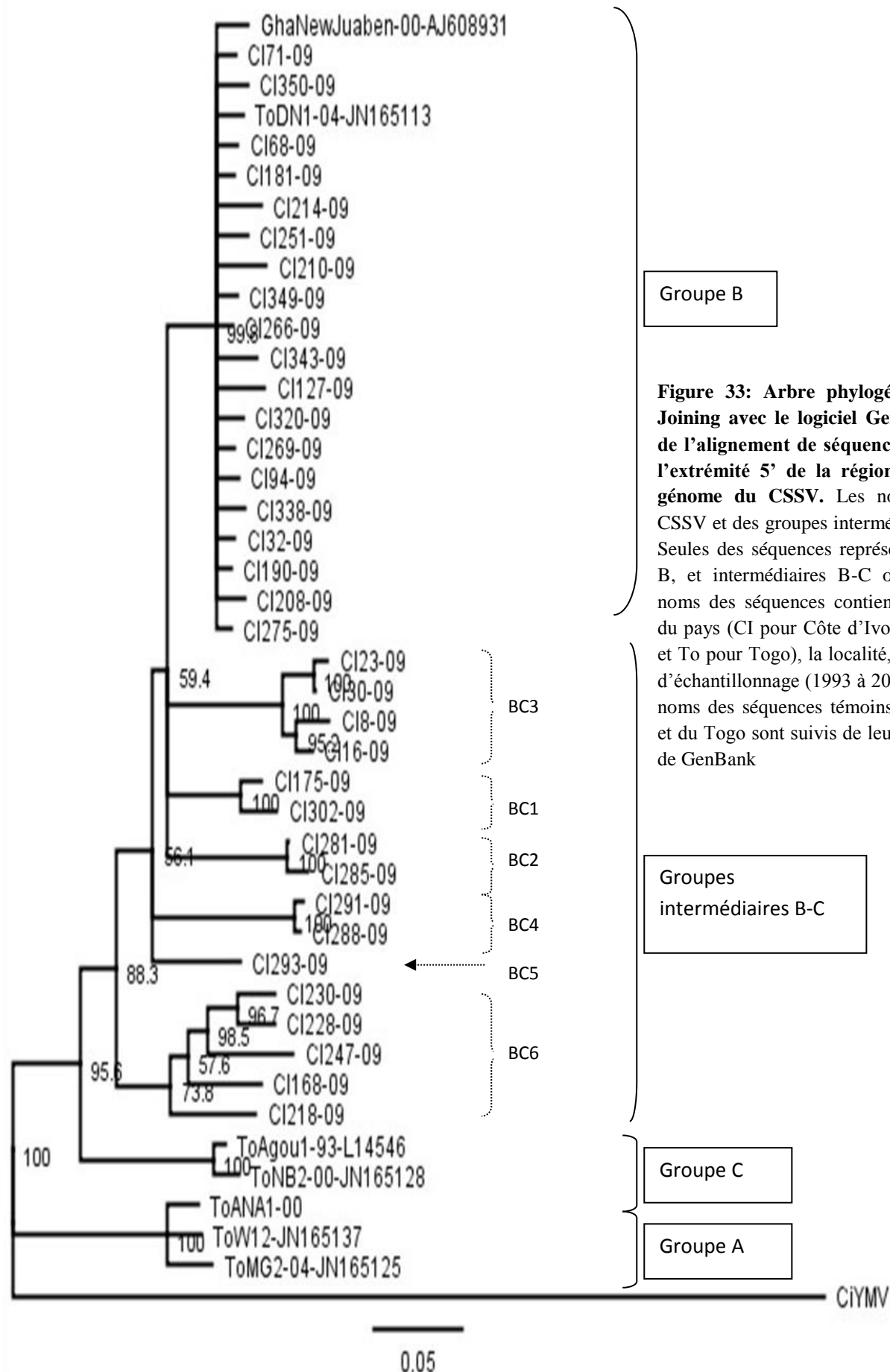
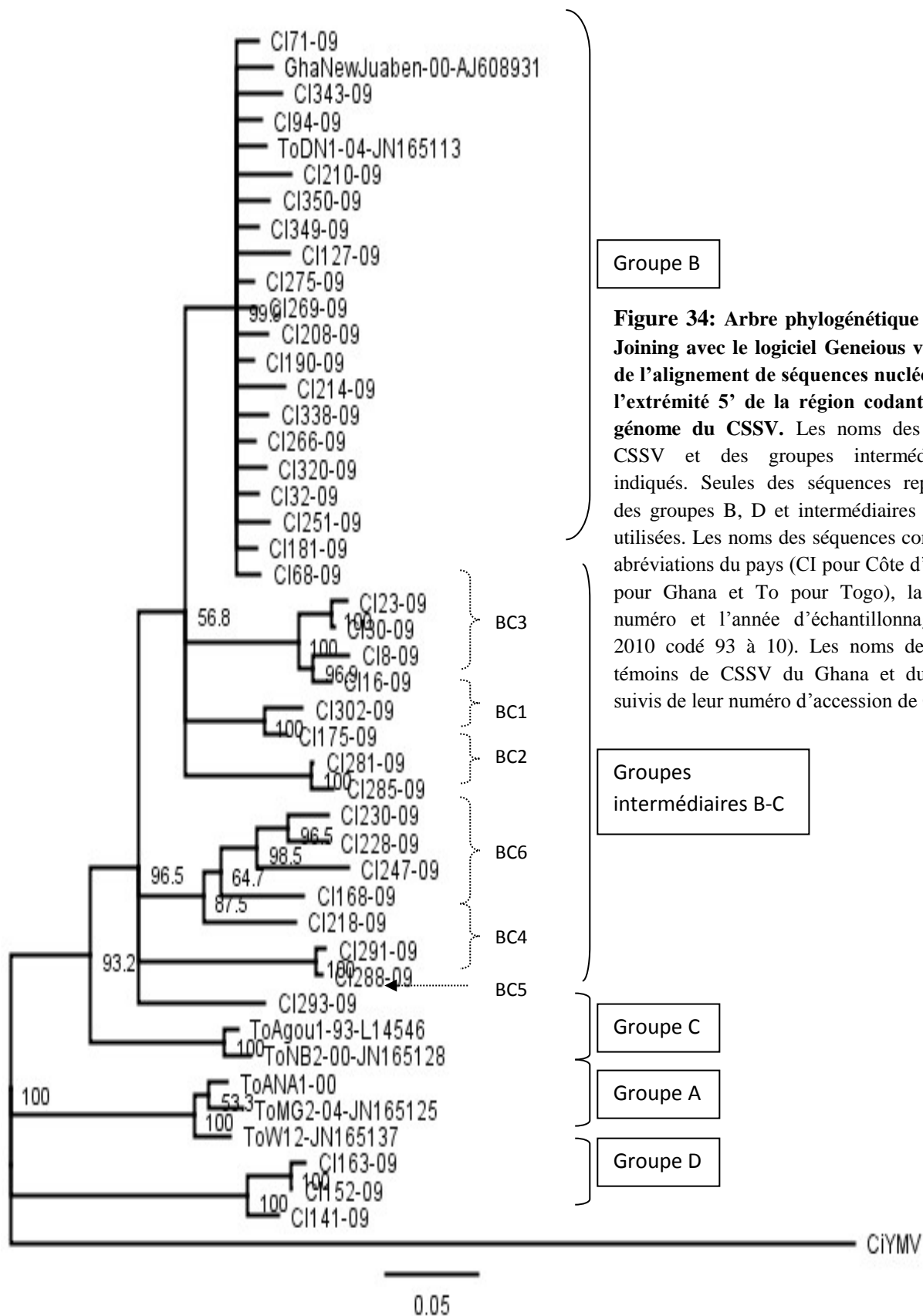


Figure 33: Arbre phylogénétique Neighbour-Joining avec le logiciel Geneious v5.1 à partir de l'alignement de séquences nucléotidiques de l'extrémité 5' de la région codante ORF3 du génome du CSSV. Les noms des groupes de CSSV et des groupes intermédiaires sont indiqués. Seules des séquences représentatives des groupes B, et intermédiaires B-C ont été utilisées. Les noms des séquences contiennent les abréviations du pays (CI pour Côte d'Ivoire ; Gha pour Ghana et To pour Togo), la localité, le numéro et l'année d'échantillonnage (1993 à 2010 codé 93 à 10). Les noms des séquences témoins de CSSV du Ghana et du Togo sont suivis de leur numéro d'accension de GenBank



7.2.2 Structure phylogénétique de l'ensemble des séquences partielles ORF3 obtenues

De nouvelles séquences partielles ORF3 ont été obtenues à la suite d'une deuxième série d'échantillonnage en 2010. Ces séquences ont été alignées en présence de celles obtenues au cours de la première phase de 2009. Au total, 134 nouvelles séquences partielles ORF3 d'isolats de CSSV dont les numéros d'accessions sont indiqués en annexes ont été obtenues. Le regroupement des isolats lorsqu'ils partagent plus de 80 % d'identité après alignement des séquences ORF3, a permis de définir 2 autres nouveaux groupes d'isolats de CSSV (E et F) très différents des groupes A, B et C déjà connus (Tableau XXIV). Ainsi la structure phylogénétique de l'ensemble des séquences partielles ORF3 du CSSV obtenues indique 3 nouveaux groupes de CSSV (D, E et F). L'arbre phylogénétique (Figure 35) a permis de visualiser les relations de parenté entre les isolats du CSSV. Le groupe B est structuré en deux parties : une partie homogène où les isolats partagent entre eux plus de 95 % d'identité et une partie hétérogène d'isolats caractérisés par des longueurs de branches variables. Dans cette partie, certaines branches sont plus longues que d'autres indiquant une évolution rapide du virus. Compte tenu de ces caractéristiques spécifiques dans la partie hétérogène du groupe B, des sous-groupes y ont été définis et notés groupes intermédiaires BC : inter BC1, inter BC2, inter BC3, inter BC4, inter BC5 et inter BC6. Les taux de répartition des séquences ORF3 des isolats dans les groupes identifiés ont été relativement les mêmes que ceux obtenus au cours des premières analyses : 75 % des séquences partielles ORF3 sont confinées dans le groupe B, 24 % sont représentés dans le groupe D, 1 % se sont réparties entre les groupes E et F. Ces résultats indiquent une importante diversité génétique du CSSV avec l'existence de 6 groupes phylogénétiques d'isolats du CSSV différents les uns des autres. Cette différence intergroupe correspond à des pourcentages d'identité nettement inférieurs à 80 %. Compte tenu des critères de l'ICTV pour la définition d'espèces virales dans ce groupe de virus (seuil de 20% de divergence), les groupes E, F et D correspondent à trois espèces virales différentes de l'espèce virale B qui inclut également les groupes intermédiaires. Les nouveaux groupes D et F du CSSV et tous les intermédiaires BC n'ont été identifiés qu'en Côte d'Ivoire.

Tableau XXIV : Indice d'identité entre des séquences partielles ORF3 représentatives de la diversité moléculaire du CSSV obtenue avec les amorces ORF3CSSV F/R et ORF3A F/R. Le pourcentage d'identité entre séquences est obtenu en multipliant l'indice par 100.

Séquences ORF3 du CSSV/ Groupe de CSSV	CI71-09 B	CI127-09 B	CI175-09 BC1	CI214-09 B	CI230-09 BC6	CI285-09 BC2	To_Agou-L14546 C	GhaNJ-00-AJ608931 B	ToW12_JN165137 A	CI163-09 D	CI632_10 E	CI617_10 F
CI71-09/B		0, 91	0, 86	0, 92	0, 81	0, 86	0,80	0, 93	0, 75	0, 60	0, 48	0, 49
CI127-09/B			0, 79	0, 85	0, 74	0, 79	0, 75	0, 86	0, 70	0,62	0,49	0,50
CI175-09/BC1				0,86	0,86	0,86	0,77	0,84	0,72	0,62	0,49	0,49
CI214-09/B					0,81	0,85	0,80	0,91	0,75	0,58	0,47	0,47
CI230-09/BC6						0,81	0,77	0,79	0,72	0,61	0,51	0,50
CI285-09/BC2							0,78	0,83	0,72	0,59	0,46	0,48
To_Agou-L14546/C								0,85	0,80	0,58	0,45	0,46
GhaNJ-00-AJ608931/B									0,80	0,56	0,45	0,46
ToW12_ORF3_JN165137/A										0,57	0,45	0,45
CI163-09/D											0,60	0,62
CI632-10/E												0,78
CI617-10/F												

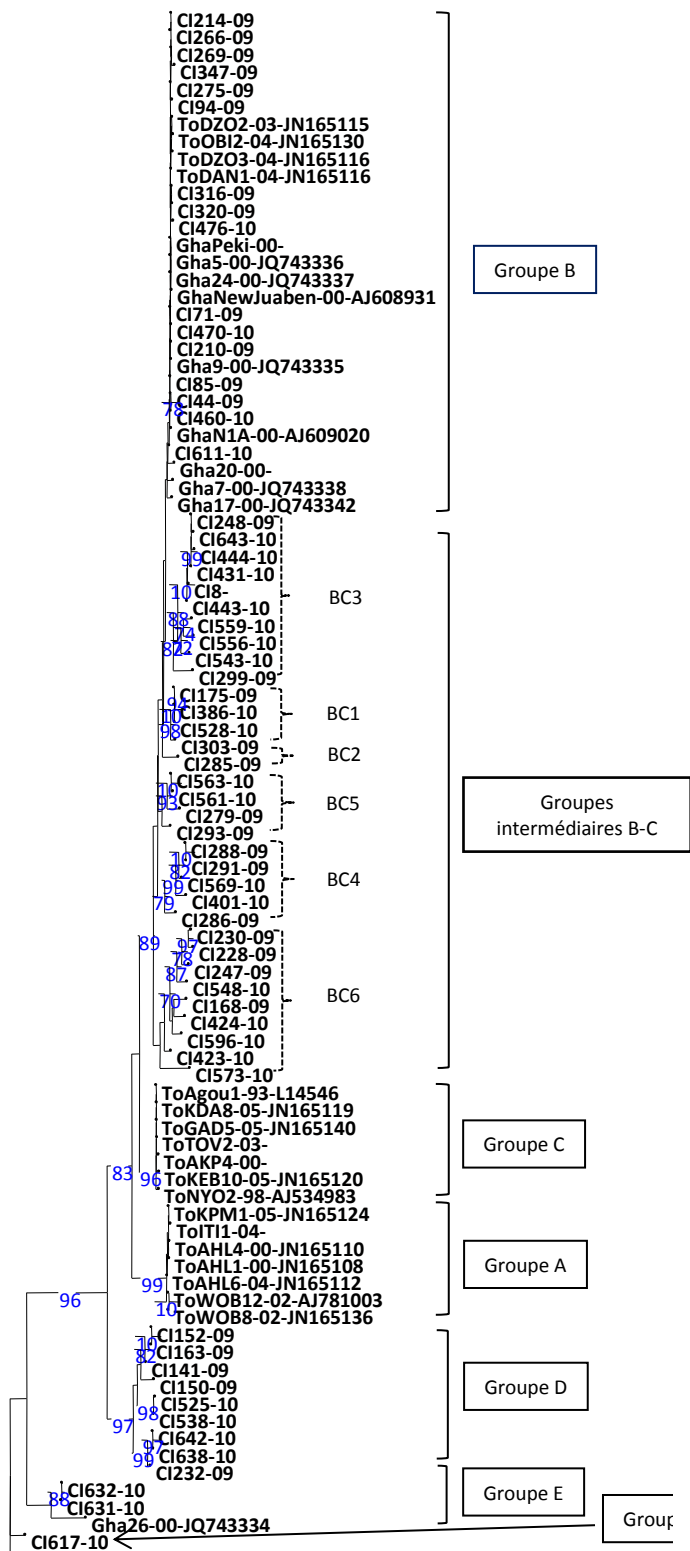


Figure 35: Arbre phylogénétique construit par la méthode de maximum de vraisemblance avec le logiciel PhyML à partir de l'alignement de séquences nucléotidiques de l'extrémité 5' de la région codante ORF3 du génome du CSSV. Les noms des groupes de CSSV et des groupes intermédiaires sont indiqués. Seules des séquences représentatives des groupes B, D et intermédiaires B-C ont été utilisées. Les noms des séquences contiennent les abréviations du pays (CI pour Côte d'Ivoire ; Gha pour Ghana et To pour Togo), la localité, le numéro et l'année d'échantillonnage (1993 à 2010 codé 93 à 10). Les noms des séquences témoins de CSSV du Ghana et du Togo sont suivis de leur numéro d'accèsion de GenBank

7.2.3 Relations entre les isolats du CSSV et les manifestations de la maladie au champ

Des corrélations ont été recherchées entre les symptômes observés dans les parcelles échantillonnées et les groupes phylogénétiques du CSSV. Pour un même isolat, les combinaisons des symptômes sur les différents organes du cacaoyer varient d'une localité à l'autre. L'isolat B du CSSV a provoqué des symptômes de mosaïques en fougères très visibles associés à des gonflements de rameaux discrets dans les foyers d'Agnibilékrou. Pour ce même isolat B, les symptômes observés à Soubré ont été des gonflements de rameaux et de racines plus fréquents associés à des mosaïques réticulés (Tableau XXV). Seul, le symptôme de bandes rouges le long des nervures des jeunes feuilles de cacaoyer a été observé dans tous les foyers. Toutefois, les gonflements dans les foyers des isolats du groupe D ont été nettement plus visibles par rapport à ceux des groupes B et inter BC. Les isolats des groupes B, D et inter BC ont provoqués des mortalités dans les foyers avec des incidences variables (Tableau XXVI) et une réduction significative du nombre de cabosses et du poids des fèves (Tableau XXVII). Parmi les 16 parcelles choisies pour les essais épidémiologiques, aucun n'a relevé des isolats du groupe E ou F. Toutefois, dans les foyers de prélèvement de des échantillons des groupes E et F, il n'a pas été observé des mortalités de cacaoyers. La différence de symptômes pour un même groupe d'isolats du virus ne peut favoriser une identification des groupes phylogénétiques au champ sur la seule base des symptômes. Par ailleurs, les isolats des groupes B, D et inter BC sont plus agressifs au champ que ceux des groupes E et F.

Les plantes d'ombrage les plus fréquents dans les foyers prospectés ont été les fromagers (*Ceiba pentandra*) et les espèces du genre *Bombax*, *Cola* et *Commelina*. Il a été observé également des espèces de taros (*Xanthosoma sp.*) dans la plupart des foyers notamment à l'emplacement des cacaoyers morts où l'infiltration de la lumière est plus grande. La présence de ces arbres dans les foyers de la maladie pourrait expliquer en partie une origine diverse des isolats identifiés.

Tableau XXV : Relations entre isolats de CSSV et symptômes de swollen shoot au champ

Type de symptômes	Groupes d'isolats de CSSV par localité d'étude											
	Duékoué		Daloa	Grand-Zattry		Soubre	Divo		Sinfra		Abengourou	Agnibilékrou
	BC2	BC4	BC6	BC1	BC6	B	D	D et BC1	B	BC3	B	B
Bandes Rouges	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Mosaïques en "fougère"	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
Mosaïques "réticulées"	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Chlorose du limbe	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gonflements des rameaux	discrets	discrets	fréquents	fréquents	fréquents	fréquents	très fréquents	très fréquents	discret	fréquents	Discrets	Discrets
Forme arrondie et taille réduite	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Gonflements des racines	fréquents	pas de gonflement	fréquents	fréquents	rare	fréquents	très fréquents	très fréquents	Pas de gonflement	pas de gonflement	pas de gonflement	pas de gonflement

(+) : présence

(-) : absence

Tableau XXVI : Relations isolats de CSSV et incidence du swollen shoot au champ.

Localités	Groupes d'isolats de CSSV	Taux d'incidence (%)
Duékoué	BC2 et BC5	7,48
Soubré	B	5,51
Grand-Zattry	BC1 et BC6	7,20
Daloa	BC6	3,93
Divo	BC1 et D	8,84
Sinfra	B et BC3	12,45
Abengourou/ Agnibilékrou	B	12,13

Tableau XXVII : Relations entre isolats de CSSV et influence du swollen shoot sur quelques paramètres de production de cacao au champ.

Localités	Groupes d'isolats de CSSV	Pourcentage de réduction de quelques paramètres de production de cacao au champ	
		Nombre de cabosses	Poids de 100 fèves
Duékoué	BC2 et BC5	48	19
Soubré	B	50	7
Grand-Zattry	BC1 et BC6	51	-
Daloa	BC6	50	26
Divo	BC1 et D	62	9
Sinfra	B et BC3	71	15
Abengourou/ Agnibilékrou	B	63	2

7.3 DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE DE LA VARIABILITE MOLECULAIRE DU *Cocoa swollen shoot virus*

7.3.1 Distribution géographique des isolats du CSSV

Les isolats de CSSV collectés en Côte d'Ivoire se sont repartis dans 4 groupes phylogénétiques du virus. Il s'agit des groupes B, D, E et F. La répartition des isolats du CSSV dans les régions de collecte a montré que dans un premier temps, les isolats du groupe B sont éparpillés dans presque tous les foyers de la maladie sauf les foyers d'Adzopé et d'Aboisso. En parcourant la zone de production cacaoyère de l'Est vers l'Ouest, la carte phytosanitaire des isolats du virus a présenté une distribution hétéroclite (Figure 36). A l'Est, dans les parcelles d'Abengourou et d'Agnibilékrou (région de l'Indénie-Djuablin), tous les isolats collectés se sont classés dans la partie homogène du groupe B. Au Sud-Est, des isolats B et F ont été détectés dans la région de la Mé (Adzopé et Akoupé). Les foyers de Maféré (région du Sud Comoé) ont présenté des isolats du groupe E. Au centre-Ouest, dans les régions du Haut-Sassandra (Daloa), de la Marahoué (Bouaflé et Sinfra), du Gô (Gagnoa) et du Lôh-Djiboua (Divo), les isolats du virus sont issus à la fois des groupes B, D et des inter-BC1, 3 et 6. La majorité des isolats du groupe B détectés dans ces régions se sont classés dans les intermédiaires à part certains foyers de Sinfra et de Bouaflé où il a été détecté des isolats B semblables à ceux identifiés à l'Est du pays. Au Sud-Ouest, dans la région du Nawa (Soubré et Grand-Zattry), des isolats B, D, inter-BC1 et inter-BC6 ont été détectés. A l'Ouest, dans la région du Guémon (Duékoué), les seuls isolats des sous-groupes inter-BC2, 4 et 5 y ont été identifiés. Ces résultats montrent que les isolats du groupe B du CSSV ont été génétiquement très proches à l'Est contrairement à ceux du Centre-ouest et de l'Ouest qui ont présenté une variabilité. La plupart des séquences partielles ORF3 du CSSV issues d'une même parcelle ont été retrouvées dans un même groupe phylogénétique.

7.3.2 Isolats du CSSV conservés en serre

Des représentants des isolats des groupes B, D, E, F et Inter-BC1 à BC6 ont été conservés en serre par greffage. Au cours de l'évolution des plants greffés, les principaux symptômes recensés ont été les bandes rouges, les mosaïques et les gonflements des tiges (Figure 37). Les analyses phylogénétiques effectuées à partir de séquences issues d'échantillons de feuilles de la serre ont confirmé l'identité virale des isolats conservés en serre (Figure 38).

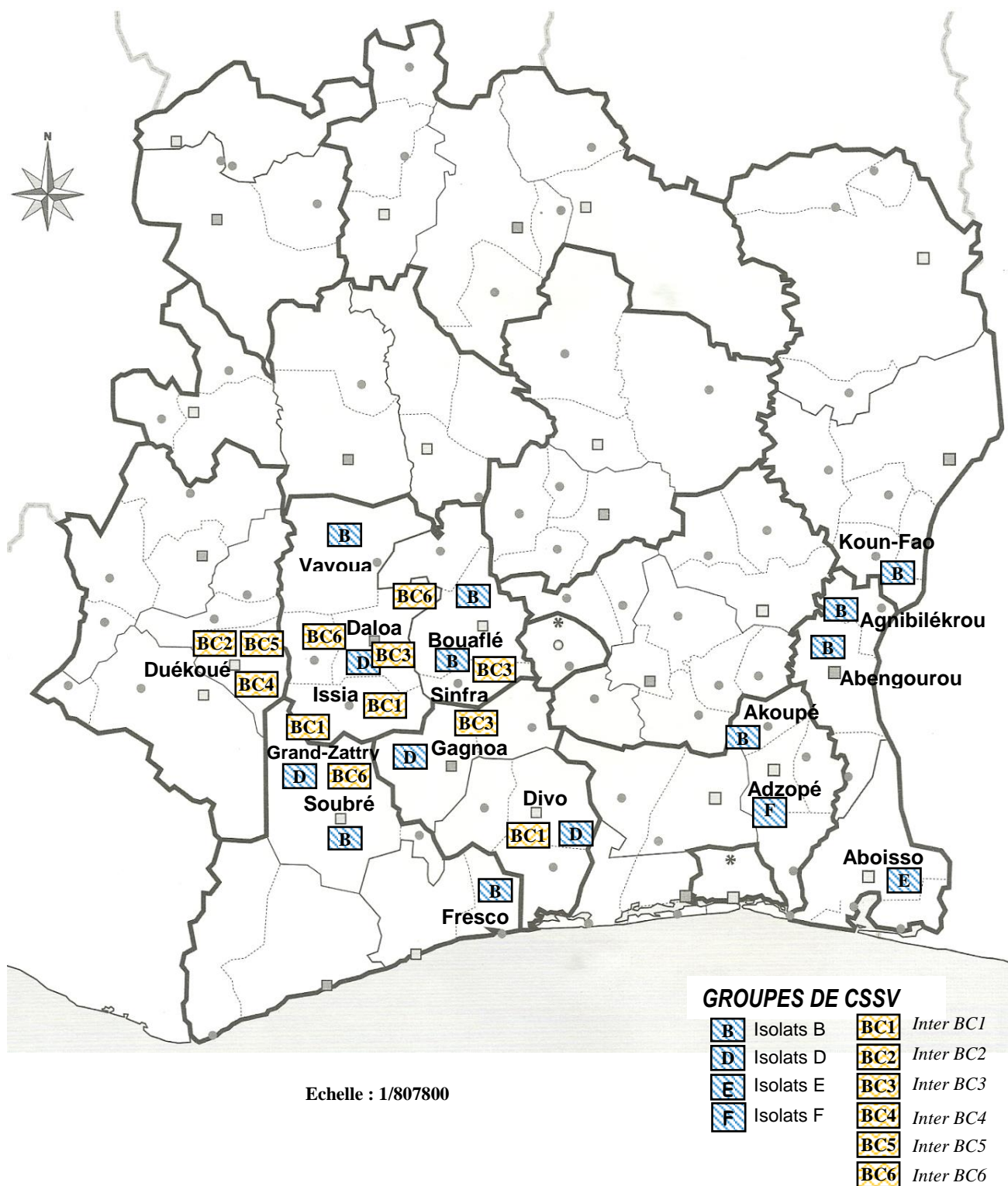
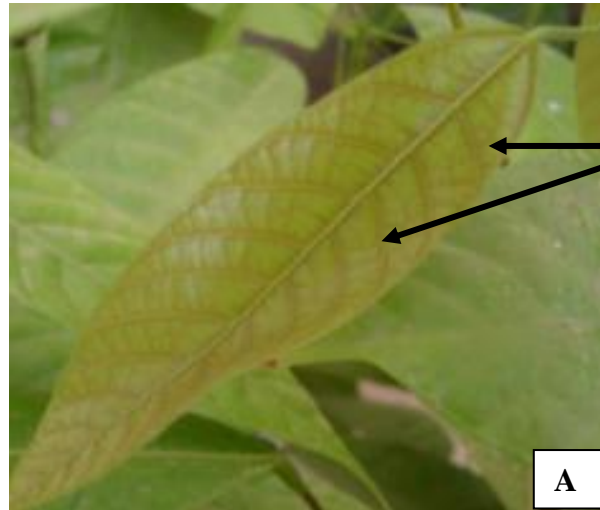
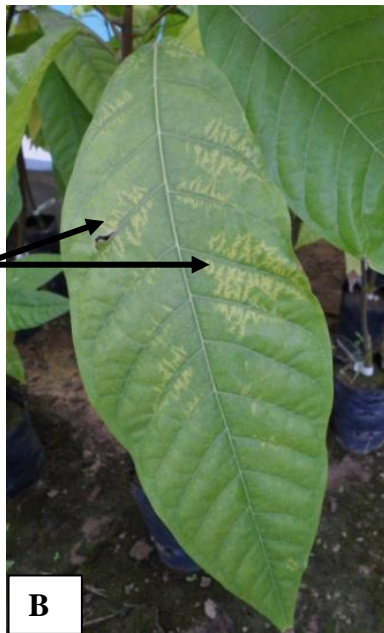


Figure 36 : Répartition spatiale des groupes d'isolats de CSSV dans les principaux foyers du swollen shoot en Côte d'Ivoire



Symptôme de
bandes rouges sur
jeune feuille de
cacaoyer en serre

A



Symptôme de
mosaïque en fougère
sur feuille adulte de
jeune cacaoyer en
serre

B



Symptôme de
gonflement sur tige
de jeune cacaoyer en
serre

C

Figure 37 : Symptômes provoqués par l'infection de jeunes cacaoyers cultivés en serre à Bouaflé avec des isolats du CSSV.

(A) : Symptômes de bandes rouges sur une jeune feuille anthocyanée ; (B) : Mosaïques sur feuilles âgées de cacaoyer ; (C) : gonflement apical sur tige d'un jeune plant de cacaoyer après 2 mois de greffage avec l'isolat B de Kongodia (Agnibilékrou).

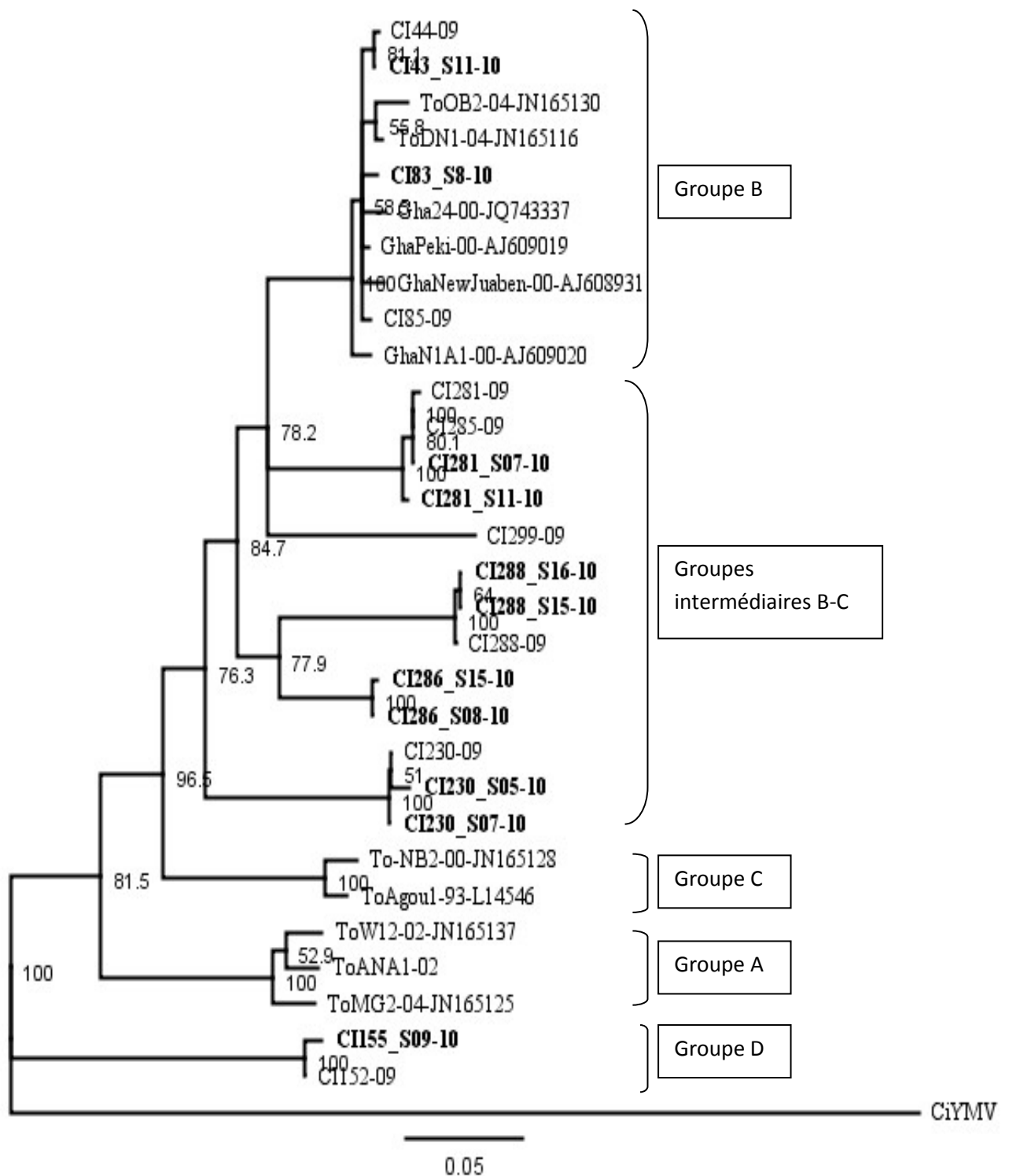


Figure 38 : Arbre phylogénétique Neighbor-Joining confirmant les groupes des isolats de CSSV conservés en serre.

Les isolats de CSSV collectés en serre en 2010 sont indiqués en gras sur l'arbre phylogénétique ; Gha = Ghana, To = Togo et CI = Côte d'Ivoire.

Conclusion partielle

Le CSSV a été détecté dans 110 parcelles sur les 119 analysées, soit un taux de détection de 92 % confirmant la présence de la maladie du swollen shoot dans la cacaoyère ivoirienne. La détection du CSSV par PCR a été nettement améliorée par l'utilisation du couple d'amorces ORF3A-F/R dans la partie ORF3 du génome viral notamment dans la zone impliquée dans la protéine de mouvement du virus. Cette zone de la portion ORF3 semble constituer une zone adaptée au diagnostic du CSSV. L'analyse phylogénétique de 134 nouvelles séquences partielles ORF3 du CSSV a mis en évidence 3 nouveaux groupes (D, E et F) de CSSV dont D et F semblent spécifiques à la Côte d'Ivoire. De plus 6 sous-groupes ou intermédiaires BC ont été relevés dans le groupe B du CSSV. La grande variabilité du CSSV mise en évidence en Côte d'Ivoire permet de démontrer l'existence (d'après les critères ICTV, référence Fauquet et al., 2005) d'au moins 4 espèces virales responsables de la maladie du cacao swollen shoot en Côte d'Ivoire : les espèces, E, F, D et B-C. L'espèce B-C est la plus ubiquiste car en plus de sa présence au Togo et au Ghana, elle a été identifiée dans la majorité des foyers de Côte d'Ivoire. Toutefois, aucun isolat des groupes A et C n'a été détecté parmi les 615 échantillons analysés. Les différents groupes d'isolats du CSSV détectés en Côte d'Ivoire ont été inégalement répartis dans les principales régions infectées par la maladie. Toutefois, il n'a pas été possible de corréler l'expression des symptômes au champ et la répartition phylogénétique des isolats du CSSV.

QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION

Les expériences que nous avons conduites ont abouti aux résultats que nous venons de vous présenter en rapport avec :

- l'épidémiologie du swollen shoot portant sur :
 - les aspects symptomatiques du swollen shoot,
 - les dégâts du swollen shoot,
 - l'impact du swollen shoot sur la production et la qualité des fèves,
- et la diversité du *Cocoa swollen shoot virus* portant sur :
 - la détection du CSSV par PCR,
 - la diversité moléculaire du CSSV,
 - la distribution géographique de la variabilité moléculaire du CSSV.

EPIDEMIOLOGIE DU SWOLLEN SHOOT

Particularités symptomatiques du swollen shoot

La seule constante symptomatique semble être le rougissement des nervures principales et secondaires observé sur les jeunes feuilles des cacaoyers atteints du swollen shoot. En effet, les symptômes du swollen shoot se sont exprimés différemment dans les 16 parcelles étudiées sans qu'une relation directe ne puisse être établie entre ces variations de symptômes et les groupes d'isolats de CSSV en présence. A l'Est à la frontière avec le Ghana, les symptômes observés ont été similaires à ceux de l'isolat New juaben au Ghana (Anthony *et al.*, 2003) et de Agou 1 au Togo (Hoffmann *et al.*, 1997). Il s'est agi notamment de symptômes de bandes rouges sur jeunes feuilles, gonflements de rameaux discrets ou peu fréquents, mosaïques en « fougère » sur feuilles adultes et cabosses de petite taille. Ces symptômes semblent caractéristiques des isolats du groupe B homogène. Dans les régions de l'Ouest et du Centre-ouest, les symptômes observés sont comparables. Il s'agit des bandes rouges sur jeunes feuilles, mosaïques « réticulées » et/ou « fougère » sur feuilles adultes, gonflements de rameaux et des racines, cabosses de petite taille et de forme arrondie. La particularité des symptômes du swollen shoot dans le Centre-Ouest se situe au niveau de la fréquence d'apparition et des types des mosaïques sur feuilles adultes et des gonflements de rameaux. Dans cette zone, les mosaïques en « fougère » sur feuilles adultes ont été rares contrairement aux symptômes de gonflements de rameaux dans les foyers. Cette variation symptomatique dans le centre ouest a été associée non seulement à la présence des isolats du groupe D mais surtout à celle de la majorité des isolats de la partie hétérogène du groupe B (inter BC).

Plusieurs parcelles notamment celles de Soubré, Sinfra, Abengourou et Agnibilékrou ont présenté une différence d'expression au niveau des symptômes de la maladie alors qu'elles ont tous été infectées par des isolats du groupe B. Les symptômes standards de l'isolat New Juaben du groupe B décrits sur la variété sensible Amelonado (Posnette, 1947) se sont présentés sous différentes combinaisons au champ. Cette différence d'expression des symptômes du swollen shoot au champ pourrait être la résultante de l'effet plusieurs facteurs à la fois intrinsèques et extrinsèques interagissant sur le système cacaoyer-CSSV. Dans un temps, les variétés de cacao peuvent avoir certaines prédispositions génétiques qui pourraient faciliter ou inhiber l'expression de certains symptômes. De plus, les interactions hôte-parasite étant fortement influencées par les facteurs environnementaux (Agrios, 2005) il est possible que la fertilité des sols, le climat et la température dans chaque région aient joué un rôle dans la variation des symptômes d'une cacaoyère à l'autre. Aussi les techniques culturales telles que la taille des gourmands, la gestion de l'ombrage, les traitements insecticides, l'apport d'engrais pourraient influencer le niveau d'expression des symptômes de la maladie. La diversité des facteurs pouvant interagir dans l'apparition des symptômes rend fastidieux l'identification des isolats du CSSV au champ. Par ailleurs, des dégâts semblables peuvent être provoqués par des isolats différents. C'est le cas des isolats Agou1 du Togo et New Juaben/1A du Ghana associés à une même forme agressive de la maladie (Partiot *et al.*, 1978 ; Castel *et al.*, 1980) qui pourtant sont issus de deux groupes distincts, B et C (Muller et Sackey, 2005). Si la faible agressivité des isolats des groupes E et F, associés à aucun cas de mortalité de cacaoyers se confirmait, ceux-ci pourraient être utilisés dans des tests de prémunition (Ollennu, 1996).

Dégâts du swollen shoot

Les données collectées au champ sur une période d'un an (campagne cacaoyère 2009/2010) ne nous ont pas permis d'avoir des données assez fiables sur l'impact de la maladie surtout dans le cas d'une plante pérenne comme le cacaoyer. Toutefois, nos résultats ont indiqué une réduction de 56,88 % de la production des cacaoyers autour des foyers de swollen shoot en milieu paysan. En ramenant ce résultat au plan national où 48 913 plantations de cacaoyers infectées par la maladie ont été recensées, la perte minimum de cacao a été évaluée à 95 869,48 tonnes de fèves de cacao frais. Une enquête socio-agronomique réalisée en 2003 à Sinfra (Centre-ouest de la Côte d'Ivoire) avait montré que le swollen shoot y était déjà présent depuis plusieurs années (Kébé *et al.*, 2006) alors que la maladie évolue de façon exponentielle au cours du temps (Thresh, 1958a). Toutefois, ces dégâts provoqués par le swollen shoot dans

la cacaoyère ivoirienne ne semblent pas pour le moment assez perceptibles car la Côte d'Ivoire maintient toujours sa place de premier rang de la production mondiale de cacao. En se référant à l'évolution de la production ivoirienne de cacao au cours de ces dernières années (Anonyme, 2011), il a été observé qu'aucune des productions annuelles de 2001 à 2009 n'a été relativement supérieure à celle de l'an 2000 (1 401 100 tonnes de cacao marchand). S'il est vrai que le verger ivoirien est vieillissant, il a été constaté ces dernières années une forte dynamique de régénération cacaoyère et de création de nouvelles cacaoyères dans plusieurs régions de la Côte d'Ivoire (Assiri, 2007). Les productions de cacao à partir de ces nouvelles créations de plantations compensent pour le moment le déficit engendré par les dégâts du swollen shoot en Côte d'Ivoire. Cette compensation de production ne saurait durer dans le temps. En effet, les nouvelles créations et les replantations sont pour la plupart mises en place sans précaution majeure avec les risques d'infection ou de réinfection, de propagation de la maladie, de nombreux échecs pouvant compromettre les efforts des paysans. Nos résultats ont montré que la majorité des isolats de CSSV présents en Côte d'Ivoire paraissent assez virulents au champ car étant capables de provoquer la mort des cacaoyers. Par ailleurs, le fait que des isolats du groupe B se retrouvent dans plusieurs foyers pourrait être dû à l'utilisation de matériel végétal infecté au cours des créations de plantations dans les différentes régions. Le scénario catastrophe de l'avenir de la production cacaoyère prévoit notamment des moyens de lutte trop onéreux ou l'indisponibilité de variétés résistantes face à l'intensification de la pression parasitaire (Anonyme, 1999). Les estimations des pertes de production ci-dessus mentionnées sont considérables pour les paysans dont la majorité ne vit que des revenus engendrés par la vente de leur cacao. L'une des conséquences à long terme serait l'abandon de la cacaoculture au profit d'autres cultures de rente.

Nos résultats ont montré que dans une parcelle infectée par le swollen shoot, les cacaoyers n'ont pas tous été affectés de la même façon. L'influence du swollen shoot a été très marquée sur les cacaoyers situés dans un rayon de 5 à 10 m autour du foyer (en considérant 2,5 m entre les cacaoyers d'une même ligne). Dans ce périmètre, le nombre de cabosses et le poids des fèves ont été considérablement réduits. Des résultats similaires avaient été obtenus au Ghana par Benstead (1951) cité par Thresh *et al.* (1988) montrant que le maximum d'arbres infectés par le swollen shoot se situe dans un périmètre de 5 m autour du foyer alors que la majorité des arbres atteints sont repartis dans les 20 m. La présence d'un grand nombre d'arbres infectés autour du foyer augmente le risque d'expansion de la maladie dans toute la parcelle et même au-delà. En effet, en plus des nombreux arbres présentant les symptômes visibles de la maladie autour du foyer, d'autres cacaoyers sont en phase de latence. Des observations

effectuées au Nigéria (Thresh et Lister, 1960) ont montré que plus de 40 % des arbres sans symptômes autour d'un foyer de swollen shoot sont en période de latence. Il est donc nécessaire d'arracher à la fois les cacaoyers avec ou sans symptômes autour des foyers dans un rayon de 10 à 15 m.

DIVERSITE DU CSSV

Détection du CSSV par PCR

Cette étude nous a tout d'abord permis de valider un diagnostic polyvalent du CSSV basé sur des amorces PCR situées dans la première partie de l'ORF3 du génome viral. Les premières amorces PCR développées pour détecter l'isolat Agou 1 du Togo (Muller *et al.*, 2001 ; Hagen *et al.*, 1993) avaient été dessinées dans la partie finale de l'ORF 3 codant pour les enzymes de réplication, Reverse Transcriptase (RT) et Ribonucléase H (RNase H). Ces amorces n'étaient pas dégénérées et de ce fait trop spécifiques pour détecter l'ensemble des isolats de CSSV. De plus, les motifs conservés présents dans cette zone et utilisés pour dessiner les amorces sont communs aux rétrotransposons identifiés en grande quantité dans le génome du cacaoyer (Argout *et al.*, 2011) et si pour les rendre plus polyvalentes, on introduit des dégénérescences, cela favorise l'obtention de faux positifs. L'étude de six séquences entières de CSSV en 2005 (Muller and Sackey, 2005) avait montré que la première portion de l'ORF 3 du génome viral était assez conservée et pouvait permettre de dessiner de nouvelles amorces de diagnostic. Les premières analyses des foyers de swollen shoot en Côte d'Ivoire qui ont utilisé ces amorces (ORF3CSSV F/R, Oro *et al.*, 2011 ; Muller, 2008a) ont révélé les limites de leur polyvalence pour détecter le CSSV. En effet, bien que permettant d'amplifier un fragment pour les groupes A, B et C détectés précédemment au Togo, elles n'ont pu détecter qu'à peine la moitié des isolats provenant des principaux foyers de Côte d'Ivoire. Le nouveau couple d'amorces ORF3A F/R dessiné en tenant compte de la variabilité mise en évidence dans les premières analyses des foyers de Côte d'Ivoire a permis de diagnostiquer le CSSV dans des parcelles n'ayant pas pu être diagnostiquées avec les amorces ORF3CSSVF/R alors que la maladie y était présente. Ces amorces ORF3A F/R ont permis de mettre en évidence la présence du CSSV pour 63% des échantillons suspectés et de confirmer la présence du virus dans 90% des parcelles analysées. Le diagnostic PCR développé à l'aide des amorces ORF3CSSVF/R a facilement pu être rendu plus polyvalent en dessinant des amorces dégénérées internes aux premières améliorant ainsi significativement la détection spécifique du CSSV sans générer de faux positifs. Cette partie du génome constitue donc une zone

adaptée au diagnostic polyvalent du CSSV. Néanmoins, s'il est vrai que le diagnostic a été amélioré, il est à noter qu'une bonne proportion d'échantillons n'a pas été détectée alors que ceux-ci présentaient les symptômes caractéristiques de la maladie du swollen shoot. Le diagnostic PCR du CSSV devra encore être amélioré en tenant compte si possible de nouvelles séquences entières des groupes E et F, pour qu'il puisse réellement être considéré et utilisé comme outil d'indexation. Etant donné l'importante variabilité déjà observée pour les populations de CSSV, il deviendra sans doute difficile d'utiliser un seul couple d'amorces pour avoir accès à l'ensemble des isolats de CSSV.

Variabilité moléculaire du CSSV

L'analyse des séquences partielles de CSSV nous a permis de mettre en évidence 3 nouveaux groupes d'isolats (D, E et F) ainsi que 6 sous-groupes intermédiaires BC en Côte d'Ivoire. Les groupes D et F sont pour l'instant spécifiques à la Côte d'Ivoire tandis que le groupe E regroupe des isolats du Ghana. La répartition des isolats et la taille de l'échantillonnage permettent d'avoir une image de la diversité du CSSV représentative de l'Est (régions de l'Indénie-Djuablin, de la Mé et du Sud-Comoé) et à l'Ouest (régions du Guemon et du Nawa) en passant par le Centre-ouest (régions de la Marahoué, du Haut Sassandra, du Gôh et du Lôh-Djiboua). La prise en compte des nouvelles séquences d'isolats obtenues à l'issue de notre étude exploratoire en Côte d'Ivoire porte à 6 le nombre de groupes structurant la diversité génétique du CSSV décrite sur la base de l'alignement des séquences de la première partie de l'ORF3. Cette partie du génome du CSSV fortement conservée (Muller and Sackey, 2005) semble également adaptée à une analyse de la structuration des populations d'isolats viraux. En effet, l'analyse de la variabilité moléculaire du CSSV est récente car elle avait été initiée sur des isolats du Togo à la fin des années 90 (Muller *et al.*, 2001) et a été étendue par la suite à différentes régions du Togo et à certains isolats du Ghana (Muller and Sackey, 2005). Cette première étude de diversité du CSSV avait seulement permis de mettre en évidence une structuration du CSSV en 3 groupes A, B et C (Muller, 2008a).

Distribution géographique de la diversité moléculaire du CSSV en Côte d'Ivoire

En Côte d'Ivoire, la variabilité génétique du CSSV est représentée par l'identification de 4 groupes distincts (B, D, E et F) diversement repartis dans les foyers de la maladie du swollen

shoot analysés. Seuls les isolats du groupe B ont été détectés dans tous les foyers de l'Est et du Centre-Ouest du pays. Ce groupe est le seul des groupes moléculaires particulièrement ubiquiste car il a été identifié à la fois au Togo, au Ghana (Muller and Sackey, 2005) et en Côte d'Ivoire. Dans les foyers de l'Est, on retrouve une forte proportion des isolats du groupe B notamment tous les échantillons collectés à Abengourou et Agnibilékrou où la maladie avait fait d'importants dégâts dans les années 1940-50. La région du Moyen Comoé (Abengourou et Agnibilékrou) a accueilli les premières plantations cacaoyères de Côte d'Ivoire au 19^e siècle (Braudeau, 1969). Actuellement, des parcelles vieillissantes composées de la variété Amelonado Ouest Africain y sont en majorité trouvées. Si on fait l'hypothèse qu'il n'y a pas eu de nouvelle introduction de matériel végétal depuis longtemps, il n'y pas eu non plus potentiellement d'introduction d'isolats viraux nouveaux dans cette région par l'intermédiaire de cabosses porteuses de cochenilles. Le groupe B détecté actuellement (et qui est aussi l'isolat le plus largement répandu géographiquement) pourrait correspondre à une introduction unique dans cette région 70 ans auparavant. Ainsi, le virus serait resté assez stable (avec une évolution très lente) à l'Est de la Côte d'Ivoire. Les plantations de l'ouest et du centre ouest composées en majorité de mélange de variétés (Amelonado, tout-venant et des hybrides de cacao sélectionnés) ont présenté à la fois des isolats viraux des groupes B, D et des sous-groupes inter B-C absents des foyers de l'Est. L'apparition de la maladie dans les parcelles du centre-ouest et son expansion seraient associées à l'introduction et/ou à l'émergence d'isolats de CSSV bien particuliers car nos observations ont montré une probable agressivité des isolats B, D et inter BC. Ce résultat signifie que la situation du CSSV au centre-ouest est devenue plus préoccupante qu'elle ne l'était en 1946 car les dégâts à cette époque étaient négligeables. D'ailleurs, il avait été conseillé l'arrachage des cacaoyers porteurs de la forme virulente (type Kongodia) et une surveillance de ceux atteints par la forme bénigne (Sankadiokro) dont on ignorait quel pourrait être son comportement dans l'avenir (Renaud, 1957). Dans le Sud-Est, nous avons détecté les isolats des groupes E et F dans des parcelles vieillissantes où seuls les symptômes de bandes rouges ont été observés. Ces résultats font penser à des isolats moins agressifs comparés aux nombreux dégâts observés dans les cas des foyers avec des groupes B ou D.

Le Ghana étant le premier pays où le CSSV a été identifié (Steven, 1936), certains isolats de CSSV détectés en Côte d'Ivoire pourraient provenir du Ghana à la suite d'échange de matériel végétal entre les paysans de ces deux pays limitrophes. Actuellement les 2 groupes en commun (B et E) entre le Ghana et la Côte d'Ivoire sont présents le long de la frontière. Ensuite, l'expansion de la maladie en Côte d'Ivoire a sans doute été la conséquence de

l'utilisation de matériel végétal infecté lors de la mise en place des plantations. Les paysans dans leur déplacement de l'ancienne boucle cacaoyère de l'Est vers la nouvelle boucle du Centre-Ouest et l'Ouest à la recherche d'espace agricole (Ruf, 1999) ont pu transporter du matériel infecté ou des cochenilles virulifères sans le savoir. En effet, la plupart des planteurs en Côte d'Ivoire utilisent du matériel végétal tout-venant (Ellen & *al*, 2000) dont l'origine est souvent inconnue. Cependant, la présence du groupe D uniquement dans les foyers du centre-ouest pourrait indiquer que ce virus existait sur d'autres hôtes dans cette région avant l'introduction du cacao car des foyers isolés avaient été rapportés dans l'ouest et le centre-ouest de la Côte d'Ivoire (Burle, 1962); d'où la possibilité de déclenchement spontané de la maladie en Côte d'Ivoire à partir des plantes réservoirs dont plusieurs servent de plantes d'ombrage dans les cacaoyères.

CONCLUSIONS GENERALES

Notre hypothèse générale était qu'il est possible d'améliorer les connaissances sur le CSSV et la maladie du swollen shoot en Côte d'Ivoire par la caractérisation moléculaire des isolats du virus et des aspects épidémiologiques de la maladie au champ. Les expériences que nous avons conduites ont permis pour la première fois de caractériser les principaux isolats du CSSV et de disposer de données préliminaires sur l'épidémiologie du swollen shoot du cacaoyer en Côte d'Ivoire. Les analyses moléculaires d'échantillons des foyers de la maladie en Côte d'Ivoire ont permis non seulement d'améliorer le diagnostic PCR du CSSV mais surtout d'enrichir la base de données du CSSV avec des nouvelles séquences partielles ORF3 du CSSV.

Le diagnostic PCR a permis la détection de 90 % des parcelles échantillonnées. Trois nouveaux groupes phylogénétiques du virus ont été mis en évidence ainsi qu'une forte variabilité au niveau du groupe B qui apparaît le plus ubiquiste. Aucun isolat des groupes A et C détectés auparavant au Togo, n'a été détecté en Côte d'Ivoire montrant ainsi une importante différenciation géographique de la diversité moléculaire du CSSV en Afrique de l'Ouest. Certes 37 % des échantillons n'ont pu être détectés, toutefois, nos résultats constituent cependant une avancée remarquable dans le diagnostic du CSSV car pour la première fois, des échantillons provenant des principaux pays producteurs de cacao (Ghana, Togo et Côte d'Ivoire) de la zone endémique de l'Afrique de l'Ouest ont été analysés et comparés.

Le recensement des principaux symptômes du swollen shoot que nous avons effectué dans la cacaoyère ivoirienne constitue une donnée importante et pourrait être très utile dans un système d'alerte et de prévention si les agents vulgarisateurs et les paysans sont formés pour diagnostiquer les premiers signes de la maladie au champ. En effet, les symptômes du swollen shoot sont souvent discrets en début d'infection dans une parcelle et ne sont pas détectables en absence d'informations de bases sur la maladie. Des anomalies similaires peuvent être provoquées par d'autres pathologies ou des désordres physiologiques à ne pas confondre avec la maladie du swollen shoot. Plus la maladie est détectée assez tôt dans une parcelle, plus efficace sera l'intervention pour limiter les dégâts.

Les dégâts de la maladie ont été caractérisés dans les foyers par des taux de mortalité de 27,6 % ; de prévalence de 26,97 % et d'incidence de 7,71 %. Les estimations ont permis de relever qu'au moins 12 millions de cacaoyers ont été infectés par le virus du swollen shoot. Nos résultats ont également mis en évidence une forte réduction des paramètres de production (nombre de cabosse, poids des cabosses, poids des fèves) par le swollen shoot sur les cacaoyers situés dans un rayon de 10 m autour du foyer.

En rapport avec l'origine des isolats du CSSV, les résultats obtenus sur la diversité moléculaire du virus constituent une avancée considérable dans la connaissance de l'origine et de l'expansion des épidémies du CSSV dans la totalité des régions endémiques.

L'explication la plus probable de la diffusion des différents groupes moléculaires de CSSV en Afrique de l'Ouest ne sera obtenue qu'après une évaluation exhaustive de la variabilité moléculaire des populations de CSSV présentes au Ghana. Si après analyse des principaux foyers de CSSV au Ghana, les groupes D et F sont bien confirmés comme étant uniquement détectés en Côte d'Ivoire, ceci indiquerait que l'émergence de la maladie du swollen shoot a eu lieu en parallèle dans différents pays, y compris le Ghana.

Ensuite, l'expansion de la maladie en Côte d'Ivoire a sans doute été la conséquence de l'utilisation de matériel végétal infecté lors de la mise en place des plantations. Cependant, la possibilité de déclenchement spontané de la maladie en Côte d'Ivoire à partir des plantes réservoirs est à explorer. Cette hypothèse ne pourra être vérifiée que si des prélèvements sont possibles sur les arbres d'ombrages pouvant avoir le rôle de plantes réservoirs à proximité des cacaoyères et que le virus y soit détecté. Par conséquent, les isolats du CSSV en Côte d'Ivoire peuvent avoir pour origine soit des isolats provenant d'autres pays par échange de matériel végétal, soit des isolats ayant évolué par changements d'hôte à partir de plantes réservoirs présentes en Côte d'Ivoire à proximité des cacaoyers.

La « réémergence » du virus dans des zones où il était déjà présent mais sans causer trop de dégâts pourrait également s'expliquer par des hypothèses mettant en cause des modifications de pratiques agricoles favorisant la dispersion du vecteur (cochenilles).

PERSPECTIVES

Cette étude avait pour objectif la caractérisation de la diversité moléculaire du *Cocoa swollen shoot virus* dans les principaux foyers et l'étude épidémiologique de la maladie dans les zones infectées en Côte d'Ivoire.

La caractérisation de la diversité moléculaire du virus devait permettre la mise au point d'une méthode de détection efficace du virus, identifier les souches virales impliquées et les conserver en serre pour les tests de criblage du matériel végétal résistant au virus. L'efficacité de la détection du CSSV par PCR a été améliorée avec la mise en évidence d'un nouveau couple d'amorces ORF3A dégénérés s'accrochant dans la première partie de l'ORF3 et qui sont apparues plus polyvalentes que celles utilisées jusqu'à présent notamment les amorces Badna1/4 et ORF3CSSV F/R.

Néanmoins, une proportion relativement importante (36 %) d'échantillons n'a pu être détectée alors que ceux-ci présentaient les symptômes caractéristiques de la maladie du swollen shoot. Ainsi, l'amélioration de la détection du CSSV devrait être poursuivie afin d'atteindre une détection de 100 % quel que soit l'origine des échantillons infectés. Plusieurs pistes de recherche peuvent être explorées :

- a) L'utilisation des nouvelles amorces du CSSV pour la détection PCR. Ces amorces pourraient être obtenues à partir de la modification des amorces ORF3A en considérant les séquences des nouveaux groupes du virus mis en évidence dans cette étude. Elles peuvent également être dessinées en considérant d'autres portions sur l'ORF3 du génome du CSSV étant donné le risque de détection de faux positifs dans le cas d'utilisation d'amorces trop dégénérées.

Au cas où il serait impossible d'obtenir un seul couple d'amorce capable de détection du CSSV à 100 %, l'utilisation d'une association de couple d'amorces différentes avant de donner le statut d'un échantillon inconnu pourrait être explorée.

- b) L'utilisation d'une technique plus sensible que la PCR classique telle que la Real Time PCR (RT-PCR) ou PCR quantitative. Cette technique présente l'avantage de visualiser l'amplification et de quantifier la charge virale.

- c) Une importante variabilité moléculaire du CSSV a été mise en évidence avec l'identification de 4 groupes phylogénétiques distincts (B, D, E et F) du CSSV et de 6 groupes intermédiaires très proches du groupe B. Ces résultats ont été obtenus à partir d'un échantillonnage effectué dans 119 parcelles alors que 48 913 parcelles infectées ont été recensées dans la cacaoyère ivoirienne. Il est nécessaire de poursuivre l'étude de la diversité génétique du CSSV dans les foyers non encore échantillonnés afin d'identifier les principales souches virales impliquées dans le développement de la maladie en Côte d'Ivoire. Il est aussi important de comprendre l'origine de cette grande diversité du virus. A cette fin, il est possible de rechercher :
- une recombinaison entre les différents groupes identifiés par l'utilisation de logiciels appropriés ;
 - d'autres sources du virus autres que le cacaoyer par la détection du virus ou de fragments du virus dans les plantes réservoirs naturels du virus par l'utilisation de la métagénomique ;

La conservation en serre des souches virales identifiées est une phase importante des tests de criblage du matériel végétal résistant au virus à mener. En effet, la caractérisation biologique des isolats viraux en serre permettra de choisir les isolats représentatifs de la variabilité moléculaire à utiliser dans les tests et de standardiser une méthode d'évaluation efficace et précoce du CSSV. Il est possible d'envisager :

- a) une indexation du virus par inoculation des groupes de virus (transmission du virus par greffage ou par cochenilles) sur la variété indicatrice Amelonado et la quantification de la charge virale par RT-PCR en fonction du temps d'infection ;
- b) une étude des relations hôte-parasite afin d'évaluer le comportement des hybrides de cacaoyers actuellement vulgarisés en milieu paysan et des clones en collection avec des isolats représentatifs de la variabilité du virus.

L'étude épidémiologique du swollen shoot avait pour but de caractériser les symptômes de la maladie, d'évaluer les dégâts et de déterminer l'influence de la maladie sur la production de cacao et la qualité des fèves. La caractérisation des symptômes du swollen shoot au champ a permis de recenser les différents aspects symptomatiques de la maladie notamment sur les feuilles, les tiges, les cabosses et les racines. Toutefois, il n'a pas été possible de relier les types de symptômes enregistrés dans les différentes localités à une souche virale donnée à cause de l'influence de l'environnement sur l'apparition des symptômes. L'évaluation des dégâts a permis de mettre en évidence l'impact du swollen shoot dans en milieu paysan.

Toutefois, il faut reconnaître que nous n'avons pas pu respecter les périodes d'observation à cause de la crise sociopolitique. Aussi, le diagnostic visuel ne nous a pas permis de dénombrer les cacaoyers en infection latente. Certes, nos résultats donnent une idée de l'état phytosanitaire des cacaoyères en zones infectées, mais ils paraissent insuffisants pour conclure sur l'évolution de la maladie. Ainsi cette étude devrait être poursuivie par les actions de recherche suivantes :

- a) La conduite de l'étude dans les parcelles expérimentales du CNRA en milieu paysan permettrait une meilleure caractérisation de la maladie compte tenue de l'existence de données de bases (type de matériel végétal, dates de plantations, etc....) sur ces parcelles. L'association de l'épidémiologie moléculaire au diagnostic visuel permettrait de mieux comprendre l'évolution de la maladie ;
- b) La collecte des données complémentaires portant sur la dynamique des populations de cochenilles dans les essais pourraient aider à la caractérisation de l'épidémie.
- c) La collecte de données complémentaires portant sur les analyses biochimiques des fèves permettrait de mieux apprécier l'influence de la maladie sur la qualité organoleptique du cacao issu d'une cabosse infectée étant donné que la détermination de l'influence de la maladie sur la qualité des fèves s'est limitée au poids des fèves fraîches au champ.
- d) Des observations en milieu contrôlé permettraient de mettre en évidence les symptômes provoqués par chacun des groupes d'isolats viraux identifiés.
- e) L'utilisation des systèmes d'informations géographiques pour établir une veille sanitaire du verger.

RECOMMANDATIONS

Nos résultats ont montré que la situation sanitaire du swollen shoot en Côte d'Ivoire est préoccupante et nécessite sans délai des mesures transitoires de lutte assez rigoureuses en attendant la sélection de variétés de cacaoyers résistants au virus. A cet effet, nous recommandons :

Aux Autorités nationales :

Un arrachage obligatoire qui devrait être imposé dans toutes les régions infectées par la maladie, même si cette mesure risque de ne pas garantir à elle seule une éradication totale. En effet, le taux de réussite au Ghana a été de 2,5 % pour 182 869 parcelles traitées entre 1946 et 1969 (Thresh *et al.* (1988).

Toutefois cette mesure présente l'avantage de ralentir l'évolution de la maladie dans les régions fortement touchées en diminuant les sources d'inoculum du virus et de protéger les régions encore indemnes du virus.

L'arrachage des cacaoyers infectés et leurs voisins doit être immédiatement suivi de leur replantation avec du matériel sélectionné.

Pour éviter la réticence des planteurs, des mesures incitatives devraient accompagner l'arrachage, telles que la distribution des semences améliorées et/ou l'indemnisation des paysans sinistrés sur la base du nombre de cacaoyers arrachés.

Il est également important de mettre en place un mécanisme de contrôle des mouvements de matériel végétal (cabosses et plants).

Aux bailleurs de fonds :

Le swollen shoot constitue un défi majeur pour une cacaoculture durable. Il est important de tenir compte de cette maladie dans le dispositif de la Recherche Agronomique en Côte d'Ivoire étant donné que la méthode efficace de lutte est basée sur la sélection variétale. Ainsi les laboratoires devraient être rééquipés et le Personnel renforcé. D'avantages de financements devraient être mis à la disposition de la recherche avec des suivi-évaluation planifiés pour faciliter les travaux en vue de l'obtention de meilleurs résultats dans un délai raisonnable.

A la Recherche :

La sélection intégrant les outils moléculaires devrait être privilégiée au regard de l'importante variabilité moléculaire du CSSV.

Il est important d'évaluer le matériel végétal sélectionné actuellement diffusé en milieu paysan afin d'en retirer les éventuelles variétés sensibles.

L'extension des actions de recherche dans tous les domaines agronomiques doit être considérée afin de cerner tous les contours de cette maladie.

La sécurité phytosanitaire des champs semenciers de cacaoyers devrait être renforcée dans les stations de production par l'inspection régulière des champs semenciers et par l'établissement de conditions particulières pour les véhicules et le personnel revenant de mission dans les zones infectées.

La collaboration avec d'autres institutions de recherche ayant une expérience sur le CSSV est nécessaire pour des échanges d'informations scientifiques en temps réel sur la maladie.

Aux paysans :

• Dans le cas d'une cacaoyère infectée :

- Eviter de déplacer les cabosses des foyers vers le reste de la parcelle au cours des récoltes ;
- Replanter progressivement à partir du centre du foyer ;
- Eviter de replanter sous les cacaoyers déjà infectés ;
- Arracher tous les cacaoyers dans un rayon entre 5 et 10 m avant replantation ;
- Eviter que les jeunes cacaoyers soient en contact immédiat avec les vieux cacaoyers malades en intercalant par exemples des bananiers ou d'autres fruitiers (orangers, citronniers, avocatier, etc.) ;
- Eviter de replanter avec des semences issues de la parcelle déjà attaquée ;

• Dans le cas de la création d'une nouvelle plantation :

- Utiliser des semences saines de cacaoyers sélectionnés vulgarisés par la recherche ;
- Transporter les semences de cacao d'une zone à une autre sous la forme de fèves fraîches ;
 - Eviter de se rendre immédiatement dans la nouvelle plantation lorsque vous venez de travailler dans une parcelle infectée ou prendre la précaution de désinfecter le matériel de travail.

REFERENCES

1. Thresh JM, Lister RM. 1960. Copping experiments on the spread and control of cacao swollen-shoot disease in Nigeria, *Annals. Appl. Biol.* 48, pp: 65-74.
2. Adomako D., DE Lessemann & H.L. Paul. 1983. Improved method for the purification and detection of cocoa swollen shoot virus. *Ann Appl Biol* 103, pp. 109-116.
3. Adu-Ampomah, Y. et G.K. Owusu. 1993. Induction of cocoa swollen shoot disease resistant mutants by gamma irradiation. In *Proceedings of the 11th International Cocoa Research Conference*, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire.
4. Adu-Ampomah, Y., G.K. Owusu, et L.A. Ollennu, 1994. Mutation breeding and tissue culture techniques in cocoa. *Report of the Cocoa Research Institute of Ghana 1991/1992*, pp. 55-57.
5. Adu-Ampomah, Y., Ollennu, L.A.A, et Adomako B., 2003. Source of resistance / tolerance to the cococa swollen shoot virus disease. Communication à la 14^è Conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Accra, Ghana, 2003.
6. Alibert, H. 1951. Les insectes vivant sur le cacaoyer en Afrique Occidentale. *Mm. Inst. Afr. Noire*, 15: 174 p.
7. Alibert, H., 1946. Note préliminaire sur une nouvelle maladie du cacaoyer le « swollen shoot ». *Agronomie Tropicale*, Paris, V.1, pp. 34 – 43.
8. Ameyaw G.A., Wetten, A. et Allainguillaume, J. 2009. Exploring Cacao swollen shoot virus (CSSV) seed transmission using molecular diagnostique methods In : 16^{ème} Conférence Internationale sur la Recherche Cacaoyère / Alliance des pays producteurs de cacao. (2009 11 16/2009 11 21 ; Denpasar, Bali, Indonesie).
9. Ameziane N., Bogard M., et Lamoril J. 2005. Principe de biologie moléculaire en biologie clinique. ISBN : 2-84299-685-2. Elsevier, Campus référence. Pp. 231-308.
10. Ampofo, S. T., 1989. Swollen shoot Control: Review of past and present work. In: *Cocoa swollen shoot workshop*. Edited by: Michael Manu et E.K. Tetteh. Cocoa Research Institute of Ghana (Ghana Cocoa Board), 33 p.
11. Angiosperm Phylogeny Group. (2011, juin 21). Wikipédia, l'encyclopédie libre. Page consultée le 22 juillet 2011 à partir de http://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Angiosperm_Phylogeny_Group&oldid=66610407
12. Anon, 1963. *Ann.Rept. Cocoa Research Institute of Ghana*.

13. Anonyme, 1999. Les mondes du cacao. Le CIRAD au salon international de l'agriculture 1999. Edité par le CIRAD avec le concours de Nestlé France. 16p.
14. Anonyme, 2004. Recensement National de l'Agriculture RNA 2001. République de Côte d'Ivoire. Ministère d'Etat, Ministère de l'Agriculture. CD Rom.
15. Anonyme, 2007. Le cacao. Atlas de l'intégration régionale en Afrique de l'Ouest. Série économique. Disponible à partir de www.atlas-ouestafrique.org. 16 p. Consulté le 13/07 /11.
16. Anonyme, 2009. ENSEA. Projet de lutte contre le swollen shoot en Côte d'Ivoire. Présentation des résultats du diagnostic des foyers du swollen shoot. Juillet 2009. 26 p.
17. Anonyme, 2011. Food and Agricultural commodities production; FAO, 2011; Consulté le 19/07/2011.
18. Anthony Fofie, Nsiah, F.E., Ampofo, S.T., et Owusu, G.K., 2003. Control of cocoa swollen shoot disease in a "cordon sanitaire" separating the area of heavy infection in Ghana from the rest of the country. In: Proceeding of the 4th INCOPED, Accra, Ghana, pp. 12- 15.
19. Assiri A.A. 2007. Identification des pratiques paysannes dans la conduite des vergers de cacaoyers en Côte d'Ivoire. Mémoire de DEA. UFR des sciences de la terre et des ressources minières. Université de Cocody Abidjan. 62 p.
20. Assiri A.A., Adiko A. et Konan A. 2006. La replantation cacaoyère par des techniques agroforestières en Côte d'Ivoire. Communication à la 15ème conférence internationale sur les recherches cacaoyères. San José, Costa Rica. Octobre 2006.
21. Astier S.,J. Albouy, Y Maury, H. Lecoq (2001). Principes de virologie végétale. Génome, Pouvoir pathogène, écologie des virus. INRA Paris, 2001. 444 p.
22. Attafuah A., Blencowe, J.C. et Brunt A.A. 1963. Swollen shoot virus disease of cocoa in Sierra Leone. *Trop. Agric. Trin.*, 40: pp. 229-232.
23. Baldauf, S. L. 2008. An overview of the phylogeny and diversity of eukaryotes. *Journal of Systematics and Evolution*, 46: 263- 273.
24. Basset, A. 1945. Les moyens de lutte contre le swollen shoot. Rapport technique du Laboratoire de phytopathologie du centre de recherche de l'A.O.F. sur le cacaoyer. 4p.
25. Benstead J. 1951. Cocoa re-establishment. Report Cocoa conference. Cocoa, Chocolate and confectionery Alliance, London 1951. Pp: 111-115.
26. Bigger, M. 1972. Recent work of the mealybug vectors of cocoa swollen shoot disease. In: Ghana. *PANS*, 19: pp. 61-70.

27. Bisaro D.M., 1996. Geminivirus DNA replication. In : DNA replication in Eucaryotic cells. Cold Spring Harbour Laboratory Press, USA, 833-854.
28. Box, H.E. 1945. Insect transmission of the swollen shoot virus in West Africa. *Nature* London 155, pp. 608–609.
29. Braudeau, J., 1969. Le cacaoyer. *Techniques Agricoles et Productions Tropicales*. Ed. Maisonneuve et Larose, Paris, 304 p.
30. Brunt, A.A. 1970. Cocoa yellow mosaic virus. CMI/AAB Descriptions of Plant Viruses no. 11. Commonwealth Mycological Institute, Kew, UK.
31. Brunt, A.A. et R.H. Kenten. 1963. The use of protein in the extraction of cocoa swollen shoot virus. *Virology* 19, pp: 388–392.
32. Burle L. 1962. Le cacaoyer. Tome deuxième. G-P. Maisonneuve et Larose, Paris, pp. 486-491. cacao using cloned DNA of cacao swollen shoot virus and particle bombardment. *Mol Plant Pathol* 84, pp: 1239–1243.
33. Castel, C., Amefia, Y.K., Djiekpor, E.K., Partiot, M., et Segbor, A. 1980. Le swollen shoot du cacaoyer au Togo. Les différentes formes de viroses et leurs conséquences économiques. *Café, Cacao, Thé* 24 (2):131-146.
34. Cotterell, G.S. 1943. Swollen shoot virus. *Rep. Centr. Res. Sta. Tafo, 1940*, 42: pp. 51-55.
35. Cuatrecasas, J. 1962. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. *Bulletin in the United States National Museum, Smithsonian Institution* (Washington) 35: 379 – 614.
36. Dale, W.T. 1954. *Ann. Rept. WACRI*. (Ghana).
37. Dale, W.T. 1957. Studies on resistance and tolerance to cacao viruses. in: *Cocoa Breeding Conference, Ghana*, P: 3.
38. Dick, M. W. 2001. Straminipilous fungi: systematics of the peronosporomycetes, including accounts of the marine straminipilous protists, the plasmodiophorids, and similar organisms, Dordrecht, The Netherlands, Kluwer Academic Publishers, 670 p.
39. Dogbé S. Y., Békou K., Mississo E., Wégbé K., Bassimbako K. H., Tsatsu K. D., Gati K., Cilas C. et Muller E. (2006) : Caractérisation des systèmes de cacaoculture et sélection participative des variétés de cacaoyers adaptées à l'environnement de production de la zone du Litimé au Togo. *Rapport final du projet FSP-SCCS/Togo*, 48p.

40. Dongo, L.N. et Orisajo, S.B. 2007. Status of cocoa swollen shoot virus disease in Nigeria. In: African Journal of biotechnology du 5 sept. 2007, vol 6 (17), pp: 2054-2061.
41. Drummond AJ, Ashton B, Buxton S, Cheung M, Cooper A, Heled J, Kearse M, Moir R, Stones-Havas S, Sturrock S, Thierer T, Wilson A. 2010. Geneious v5.1, Available from <http://www.geneious.com>
42. Dufour, B. ; Djiepor, E. K. ; Paulin, D. et Cilas, C., 1993. Méthode de criblage pour la résistance au virus du swollen shoot : Amélioration de la transmission par cochenilles. In : Actes de la 11^e conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Yamoussoukro, Côte d'Ivoire, pp : 243-244.
43. Dufour, B., 1987. Utilisation d'une méthode de transmission pour l'identification des formes Togolaises du swollen shoot du cacaoyer. Premiers résultats. In : Actes de la 10^e conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Santo Domingo, République Dominicaine, pp: 521-526.
44. Duverger, B. 1989. Les déprédateurs du cacaoyer. IRCC/CIRAD. 15p.
45. Dzahini-Obiatey H, Fox RTV. 2006. Early developments in hostpathogen interaction between Cacao swollen shoot virus (CSSV) and the cocoa plant. Proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference, Herradura Plaza Hotel, San Jose, Costa Rica, October 9 -14, 2006 pp. 885-897.
46. Dzahini-Obiatey H., Owusu D. et Amoah F. M. 2010. Over seventy years of a viral disease of cocoa in Ghana: From researchers' perspective African Journal of Agricultural Research Vol. 5 (7), pp. 476-485.
47. Dzahini-Obiatey, H. 1993. The development and use of molecular biological techniques in the diagnosis of cocoa swollen shoot virus (CSSV): Application to viruses from Malaysian cocoa leaves and Commelina species from cocoa fields in Ghana. M.Sc. Thesis, University of East Anglia, Norwich, UK.
48. Dzahini-Obiatey, H., Akumfi Ameyaw, G. et Ollennu, L.A. 2006. Control of cocoa swollen shoot disease by eradicating infected trees in Ghana: A survey of treated and replanted areas. In: Crop Protection 25, pp: 647–652.
49. Ellen, H.F., Philippe, P., et Jacques, R. 2000. Les champs du cacao. Un défi de compétitivité Afrique-Asie. Karthala et CIRAD, ed.
50. Ensea, 2009. Présentation des résultats du diagnostique des foyers du swollen shoot. Juillet 2009. 26 p.
51. Entwistle P.F. (1972). Pest of cocoa. Longman Group Limited, London, 779 p.

52. Entwistle P.F. 1958. Mealybugs. A brief review of previous attempts at control. The Ghana farmer, 2: pp. 1-5.
53. Fauquet, C., Mayo, M., Maniloff, J., Desselberger, U., et Ball, L. 2005. Virus Taxonomy: Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses: Elsevier Academic Press.
54. Freud E.H., Petithuguenin P. et Richard, J. 2000. Les champs de cacao : un défi de compétitivité Afrique Asie. Editions Karthala et CIRAD, Paris, 207 p.
55. Gawal, N.J. et Jarret, R.L. 1991. A modified CTAB DNA extraction procedure for Musa and Ipomea. Plant Molecular Biology Report, 9: 262-266.
56. Gould, A.R. & R.H. Symons. 1983. A molecular biological approach to relationships among
57. Guindon, S., et Gascuel, O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. Systematic Biol. 52 (5):696-704.
58. Haenni A-L. 2008. Virus evolution and taxonomy. In: Plant virus evolution. Edited by Roossinck MJ. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2008. ISBN: 978-3-540-75762-7. Pp: 205-217
59. Hagen, L.S., M. Jacquemond, A. Lepingle, H. Lot et M. Tepfer. 1993. Nucleotide sequence and genomic organization of cacao swollen shoot virus. Virology 196, pp: 619–628.
60. Hall, T.A. 1999. BioEdit : a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. Nucl. Acids. Symp. Ser. 41:95-98.
61. Hoffmann K, Sackey ST, Maiss E, Adomako D, Vetten H J, 1997. Immunocapture polymerase chain reaction for the detection and characterization of cocoa swollen shoot virus 1A isolates. Journal of. Phytopathology. 145: 205 – 212.
62. Kébé B.I.; K. Koffié et K.F. N’guessan. 2006. Le swollen shoot en Côte d’Ivoire: Situation actuelle et perspectives. Communication à la 15^{ème} conférence internationale sur la recherche cacaoyère, 9 –14 octobre 2006, San José, Costa Rica.
63. Kébé BI, Koffi N., Konan A., N’guessan K.F., N’goran J. et Irié B.Z. 2005. Bien cultiver le cacaoyer. Fiche technique. Centre National de Recherche Agronomique, Août 2005, 4p.
64. Kébé, B.I. 1996. Phytopathologie du cacaoyer. Dans : Cahier du stagiaire. Formation des techniciens spécialisés à la culture du café et du cacao. IDEFOR-DCC/ANADER, pp : 96-97.

65. Kébé, B.I. et N'guessan, K. F., 2003. Rapport de la mission de prospection du swollen shoot. 11 – 13 Septembre 2003. C.N.R.A – Divo, 7 p.
66. Kébé, B.I., 1996. Phytopathologie du cacaoyer. Cahier du stagiaire. Formation des techniciens spécialisés à la culture du café et du cacao. IDEFOR-DCC/ANADER. P. 93-97.
67. Khetarpal RK, Maisonneuve B, Maury Y., Chalhoub B, Dinant S, Lecoq H. et Varma A. 1998. Breeding for resistance to plant viruses. In Plant virus diseases control. Edited by Hadidi A., Khetarpal R.K. and Koganezawa H. American Phytopathological Society, 1998. pp: 14-32.
68. Koné Y. R.1998. Etude de la structure actuelle des populations de *Phytophthora* spp., agents de la pourriture brune de cabosses du cacaoyer(*Theobroma cacao* L.) en Côte d'Ivoire. Mémoire de D.A.A. Institut National Polytechnique Houphouët Boigny de Yamoussoukro. 109 p.
69. Kouassi, N.L., 2001. Evaluation de 16 clones de cacaoyers pour la résistance aux mirides : cas de *Sahlbergella singularis*. Mémoire de D.A.A. Institut National Polytechnique Félix Houphouët Boigny de Yamoussoukro, 40p.
70. Lavabre, E. M., 1970. Insectes nuisibles es cultures tropicales (Cacaoyer, Caféier, Poivrier, Théier). Ed Maisonneuve et Larose, Paris, p. 117-162.
71. Legg J. T. et Bonney J. K. 1967.The host range and vector species of viruses from *Cola chlamydantha*, *Adansonia digitata* and *Theobroma cacao*. Ann. Appl. Biol. 60, 3 pp 399-403.
72. Legg J.T. et Ollennu, LAO. 1974. Joint CRIG / Cocoa production division coppicing trials to assess latent virus infection. Rep. Cocoa Res. Inst. Ghana, 1973-1974, 70 p.
73. Legg, G. T., 1975. Cocoa swollen shoot disease – know your enemy. In: Actes de la 5e conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Ibadan, Nigeria 1977, pp: 397- 408.
74. Legg, T.T. 1982. The cocoa swollen shoot Research project at the cocoa Research Institute, Tafo, Ghana 1969-1978. Overseas Development Administration: London.
75. Liu, P.S.W. 1979. Watermark. in: A new cocoa virus diseases. Technical Bulletin, Department of Agriculture, Sabah, Malaysia, pp: 19–20.
76. Lockard B.E.L.et Sackey S.T.2001.Cacao swollen shoot. In: Encyclopedia of plant pathology. O.C. Maloy et T.D. Murray, eds. John Wiley & Sons, Inc., New York, pp: 172-173.

77. Lockhart, B.E.L. 1990. Evidence for a double-stranded circular DNA genome in a second group of plant viruses. *Phytopathology* 80, pp: 127–131
78. Lot, H.E., E. Djiekpor, et M. Jacquemond. 1991. Characterization of the genome of cacao swollen shoot virus. *Journal of General Virology* 72, pp: 1735–1739.
79. Madden, Gareth Hughes, Frank van den Bosch. 2007. The study of plant disease epidemics. American Phytopathological Society, 2007. ISBN: 0890543542, 9780890543542. 421p.
80. Meiffrein, M., 1948. Extrait du rapport annuel 1947 de la division de Phytopathologie du centre de recherche de l'A.O.F. sur le cacaoyer. N° 188 / S.C.R.A, 20p.
81. Mississo A., 2003. Initiation aux techniques de base biologie moléculaire. Rapport de Stage, laboratoire de Virologie CIRAD-AMIS. Du 12 mai au 26 juin à Montpellier, France. 12 p.
82. Mosu, G (1990). Le cacaoyer. Le technicien d'agriculture tropicale. N° 14, pp : 9-109.
83. Motamayor J.C., Lachenaud P., Wallace da Silva e Mota J., Llor R., Kuhn D. N., Steven Brown J., Schnell R.J., 2008. Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L.). *PLoS ONE*, 3 (10) : e3311. page consulté le 22/07/2011.
84. Motamayor, J. –C, Ristericci, A. M., Lopez, P.A., Ortiz, C.F., Moreno, A. et Lanauch, C. 2002. Cacao domestication I: The origin of the cacao cultivated by the Mayas. *Heredity* 89, pp: 380-386.
85. MPIKA Joseph, Ismaël B. KEBE, Irina S. DRUZHININA, Monika KOMON-ZÉLAZOWSKA, Christian P. KUBICEK2 & Séverin AKÉ. 2009. Inhibition de *Phytophthora palmivora*, agent de pourriture brune des cabosses de cacaoyer en Côte d'Ivoire, par *Trichoderma* sp. *Sciences & Nature* Vol. 6 N°1 : 49 - 62 (2009).
86. Muller E, Jacquot E, et Yot P (2001). Early detection of cacao swollen shoot virus using the Polymerase chain reaction. *J Virol Methods* 93, pp: 15–22.
87. Muller, E et Sackey, S. 2005. Molecular variability analysis of five new complete cacao swollen shoot virus genomic sequences. In: *Archives of virology* (150), pp: 53-66.
88. Muller, E. 2008. Cacao swollen shoot virus. Pages 403-409 in: *Encyclopedia of Virology*, Third edition, B. W. J. Mahy et M. H. V. Van Regenmortel, eds. Oxford, Elsevier.
89. Muller, E., Sackey, S., Mississo, A. 2003. Variabilité du virus du cacao swollen shoot (CSSV) : clonage et analyse de quatre nouvelles séquences entières. Communication à

- la 14ème conférence internationale sur les recherches cacaoyères. Accra, Ghana du 13 au 18 Oct. 2003, pp: 653-661.
90. Murray, D.F. 1945. First progress report of the Nigerian Cocoa Survey, April 1944–March 1945 (Mimeographed).
 91. N'guessan, K.F., Coulibaly, N., 2001. Dynamique des populations de mirides et de quelques autres déprédateurs du cacaoyer dans la région Ouest de la Côte d'Ivoire. In : Actes de la 13è conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Kota Kinabalu, Sabah, Malaysia, pp: 425-435.
 92. Neyman J. 1971. Statistical Decision Theory and Related Topics. Eds. S. Gupta and Y. Jackel, (Academic Press, New York, 1971). Pp: 1–27.
 93. Ollennu LA, Owusu GK, Thresh JM.1989b. The control of cocoa swollen shoot disease in Ghana. Cocoa Growers Bulletin 42, pp: 25-35.
 94. Ollennu LA, Owusu GK, Thresh JM.1989a. Spread of cocoa swollen shoot virus to recent plantings in Ghana. Crop Protection 8, pp: 251-264.
 95. Ollennu LAA, Owusu GK (2003). Field evaluation of the protective capability of CSSV N1 against severe strain New Juaben (1A) isolate. Ghana. J. Agric. Sci. 36, pp : 3-12.
 96. Ollennu LAA, Owusu GK. 2002. Spread of cocoa swollen shoot virus to cacao (*Theobroma cacao*) plantings in Ghana. Trop. Agric. 79, pp: 224-230.
 97. Ollennu, L. A. A., J.d'A. Hughes, et G. K. Owusu. 1996. Mild strain cross-protection of cocoa against cocoa swollen shoot badnavirus. Tropical Science 36, pp: 116–128.
 98. Ollennu, L. A. A., J.d'A. Hughes, et G. K. Owusu. 1996. Mild strain cross-protection of cocoa against cocoa swollen shoot badnavirus. Tropical Science 36, pp: 116–128.
 99. Ollennu, L.A.A., G.K. Owusu, et J.M. Thresh. 1989. The control of cocoa swollen shoot disease in Ghana. Cocoa Growers' Bulletin 42, pp: 26–36.
 100. Oro, F., Mississo, E., Okassa, M., Guilhaumon, C., Fenouillet, C., Cilas, C., et Muller, E. 2011. Geographical differentiation of the molecular diversity of Cacao swollen shoot virus in Togo. Arch. Virol. In press.
 101. Owusu G. K. 1972. Acquisition of Swollen Shoot virus by mealybugs from cocoa plant during the period of latent infection. Annual -report Cocoa Research Institute of Ghana, 1969-70, p: 60.
 102. Owusu, G. K., 1983. The cocoa swollen shoot virus disease problem in Ghana. In: Plant Virus Epidemiology. Edited by R. T. Plumb and THRESH J. M., Oxford: Blackwell Scientific Publications, pp : 73-83.

103. Owusu, G.K. 1978. Performance of the Eastern Region Cocoa project: Disease control: swollen shoot disease. Report on the evolution of the Ghana Government / World Bank Cocoa Rehabilitation Projects in the Eastern and Ashanti Regions. Ghana government/World bank Cocoa Project Evaluation Committee, Accra, Ghana, pp: 87-88.
104. Partiot M. 1983. La maladie du swollen shoot du cacaoyer (*Theobroma cacao*, *sterculiacées*): Etude de la nature et de l'évolution d'un couple hôte-parasite dans un écosystème tropical. Thèse de Doctorat d'Etat, Université de Paris-Sud (Orsay), 181 p.
105. Partiot, M., Y.K. Amefia, E.K. Djiekpor, et K.A. Bakar. 1978. Le "swollen shoot" du cacaoyer au Togo. Inventaire préliminaire et première estimation des pertes causées par la maladie. Café cacao Thé, Vol XXII, n° 3juil. – sept. 1978, pp: 217–228.
106. Perrier, X et Jacquemoud-collet, 2009. Dissimilarity Analysis and Representation for Windows (Darwin) Current Released Version: 5.0.157 (2009-01-07).
107. Philippe L. (2003). Phytopathologie. Les presses agronomiques de Gembloux. de Boeck, pp : 41-78.
108. Ploetz, R.C. 2007. Cacao Disease: Important Threats to Chocolate Production Worldwide. *Phytopathology* 97, pp: 1634-1639.
109. Posnette A. F. 1952. Virus diseases of cacao in West Africa: the present position. Report of the thirteenth international horticultural congress, sect. 7, 11 p.
110. Posnette A. F., Todd J. McA. 1955. –Virus disease of cacao in West Africa. IX. Strain variation and interference in virus IA. *Annals of Applied Biology* (Londres), 43, 433-453.
111. Posnette A.F et Todd J. Mc A. 1951. Virus diseases of cacao in West Africa. The search for virus resistant cacao. *Ann. Appl. Biol.* 38: 785 p.
112. Posnette AF. 1947. Virus diseases of cacao in West Africa. *Annals of Applied Biology* volume 34, pp: 388-402.
113. Posnette AF. 1981. The role of wild hosts in cocoa swollen shoot disease. Association of applied biologists. Pest pathogens and vegetation. The role of weeds and wild plants in the ecology of crops pests and disease. Edited by JM Thresh. 1981, pp: 71-77.
114. Posnette, A. F., 1940. Transmission of swollen shoot. *Trop. Agriculture, Trin.*, pp : 17-98.
115. Posnette, A.F. 1941. Swollen shoot virus disease of cacao: review of research work to November 1940. *Tropical Agriculture, Trinidad* 18, pp: 87–90.

116. Posnette, A.F. 1943. Swollen shoot in Trinidad. Tropical Agriculture Trinidad 21, p: 105.
117. Posnette, A.F. 1947. Virus diseases of cacao in West Africa I. Cacao viruses 1A, 1B, 1C, and 1D. Annals of Applied Biology 34, pp: 388–402.
118. Posnette, A.F., N.F. Robertson, et J.M. Todd. 1950. Virus diseases of cocoa in West Africa. V. Alternative host plants. Annals of Applied Biology 37, pp: 229–240.
119. Provvidenti R et Alconero R 1988. Inheritance of resistance to a lentil strain of pea seed borne mosaic virus in *Pisum sativum*. Journal of Heredity 79: 45-47.
120. Quainoo A.K., Wettene A.C. et Allainguillaume J. 2008. Transmission of cocoa swollen shoot virus by seeds. Journal of Virological Methods 150 (2008), pp: 45–49.
121. Renaud, R., 1957. Distribution of virus disease of cocoa in the Ivory Coast. In: Cocoa Conference, London. Proceeding London, UK: cocoa, chocolate and confectionary alliance, pp: 78 – 80.
122. Roivainen, O., 1976. Transmission of cocoa viruses by mealybugs (Homoptera: Pseudococcidae). Journal of the Scientific Agricultural Society of Finland 48, pp: 433–453.
123. Ruf, F. 1999. Comment et pourquoi la Côte d'Ivoire produit durablement plus d'un million de tonnes de cacao. Afr. Agric. 268:21-25.
124. Sagemann W. Paul H.L., Adomako, D., Owusu G.K. 1983. The use of Enzyme linked immunosorbent Assay (ELISA) for detection of cocoa swollen shoot virus (CSSV) in *Theobroma cacao*. Phytopath. Z. 106: 281-284.
125. Sagemann, W., D.E. Lesemann, H.L. Paul, D. Adomako, et G.K. Owusu. 1985. Detection and comparison of some Ghanaian isolates of cocoa swollen shoot virus (CSSV) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and immunosorbent electron microscopy (IEM) using an antiserum to CSSV strain 1A. Phytopathologische Zeitschrift 114: 78–89.
126. Saitou, N. et M. Nei (1987). "The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees." Molecular Biology and Evolution 4(4): 406-425.
127. SAS, 1989. SAS/STAT. User's guide, version 6. Fourth Edition, SAS institute Inc. 846p.
128. Steven, W. F., 1936. A new disease of cocoa in Gold Coast. Gold Coast Farmer, Vol. 7, pp: 122-123.
129. Tahi G. M., Kébé B.I., Cilas C. et Eskes A.B. 2006. Facteurs affectant la résistance foliaire du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) à *Phytophthora palmivora* et sa corrélation

avec la résistance des cabosses. Communication à la 14^è Conférence internationale sur la recherche cacaoyère. San José, Costa Rica. Octobre 2006.

130. Thompson J. D., Higgins D.G., Gibson T.J. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. 22(22),pp: 4673-4680.
131. Thomson, K.G., Dietgzen, R.G., Thomas, J.E., Teakle, D.S.1996. Detection of pineapple bacilliform virus using the polymerase chain reaction. Ann. Appl. Biol. 129, 57–69.
132. Thresh J.M., 1988. Eradication as a virus disease control measure. In: Control of of plant diseases, cost and benefits, Clifford B.C., Lester E., Blackwell Scientific Publications, Oxford, p. 155-194.
133. Thresh, J. M. 1991. The ecology of tropical plant viruses. Plant Pathol. 40:324-339.
134. Thresh, J.M. 1958a. The spread of virus disease in cacao. West African Cocoa Research Institute. Technical Bulletin N°. 5, 36 p.
135. Thresh, J.M. 1958b. The control of cocoa swollen shoot disease in West Africa. West African Cocoa Research Institute Technical Bulletin N° 4, 36 p.
136. Thresh, J.M., Owusu G.K., et Ollennu L.A.A. 1988. Cocoa swollen shoot virus: an archetypal crowd disease. Zeitschrift fur Pfl anzenkrankheiten und Pfl anzenschutz 95, pp: 428–446.
137. Tinsley T. W. et Wharton A. L., 1958. Studies on the host range of viruses from Theobroma cacao L. Ann. Appl. Biol. (Londres), 46, pp: 1-6.
138. Tinsley T.W. 1971. Journal of Applied Ecology 8, 491-495.
139. Tsatsu, D.K. et Bekou, K., 2003. La maladie du swollen shoot du cacaoyer au Togo: Evolution et stratégie de lutte. Communication à la 14^è Conférence internationale sur la recherche cacaoyère. Accra, Ghana, 13 - 18 Octobre 2003.
140. Vos J. G. M., Barbara J. Ritchie et Julie Flood. 2003. A la découverte du cacao. Un guide stimulant pour la formation des facilitateurs. CABI Biosciences, a division of CAB International, pp : 11-58.
141. Wiltshire, S. P. (1946). Common names of virus diseases used in the Review of Applied Mycology. Rev. appl. Mycol. 24, 513.
142. Wood G.A.R et Lass R.A. 1989. Cocoa. Tropical agriculture series. Edition, Longman, pp: 620p.
143. Yoro G.R. et Kassin K.E., 2004.Caractérisation morphologique des sols des cacaoyères dégradées de l'Est, du Sud-Est et du Sud de la Côte d'Ivoire. Rapport technique du projet STCP : régénération cacaoyère en Côte d'Ivoire. 46 p.
144. Zelensky, N., 1947. Partie technique du rapport sur la lutte contre le swollen shoot dans le cercle de Daloa pendant le mois de juin 1947. Rapport sous-secteur agricole n°28/ss.3p.

ANNEXES

Localités échantillonnées en Côte d'Ivoire

Régions	Sous-préfectures	villages ou campements
Agnéby-Tiassa	Akoupé	Adikokoi
	Adzopé	Djoubgôssou
Nawa	Soubré	Soumalilakro (Petit bondoukou)
		Konédougou
		kramokro
	Oupoyo	Felixkro (Robert porte)
		Bathélémykro (Robert porte)
		Robert Porte
		Oupoyo
		konanblékro (axe petit bkou-walébo)
	Grand-Zattry	Oureyo I
		Grand-Zattry
		Amanikro (Zaqueoua)
		Roa
Gôh	Bayota	Nékéidé
Haut sassandra	Gonaté	Gonaté
		Zéréfla
	Zoukougbeu	Belle ville
		Boukarykro, Zita
		Tourékro
	Gadouhan	Zaliohouan
		Bébouo Siboué
		Zaliohouan
	Bédiala	Bédiala
	Vavoua	5 carrefours (Bazara Natis)
	Issia	Bitapia (Tiebakoffikro)

	Saïoua	Saïoua
	Boguedia	Mimia
		Bissagué
Marahoué	kouétinffa	yobouékouamékro (akakro)
		Akakro
		Grizokro
	Bazré	Abouakro
		N'zikro
		Sokobakro
		Odienékaman
		kouamékro
	Bouaflé	N'denoukro
		Grarango II
		Bozi
		Sokrolaye
	Bonon	Petit Gohitafla
		Petit zuénoula
		Bonon
Guemon	Duékoué	Joachinkro (Pinhou)
		Glahou
		Bahyé B, Noelkro
	Gbapleu	Laviadougou
Indenié-Djuablin	Abengourou	Kablankro
	Yakassé Feyassé	Sankadiokro
	Damê	Damê
	Agnibilékrou	kongodia
Lôh-Djiboua	Divo	Pascalkro (palmci)
		Boubo (palmci)
		Labodoukou
Gbôkle	Fresco	Louloudou
Sud Comoé	Mafféré	Bodjonou
Gontougo	Tankessé	Améyaokro

Numéros d'accès des séquences d'isolats de CSSV de Côte d'Ivoire

1. BankIt1475830 CI23-09 JN606111
2. BankIt1475830 CI77-09 JN606112
3. BankIt1475830 CI71-09 JN606113
4. BankIt1475830 CI150-09 JN606114
5. BankIt1475830 CI281-09 JN606115
6. BankIt1475830 CI8-09 JN606116
7. BankIt1475830 CI30-09 JN606117
8. BankIt1475830 CI32-09 JN606118
9. BankIt1475830 CI54-09 JN606119
10. BankIt1475830 CI68-09 JN606120
11. BankIt1475830 CI85-09 JN606121
12. BankIt1475830 CI94-09 JN606122
13. BankIt1475830 CI175-09 JN606123
14. BankIt1475830 CI190-09 JN606124
15. BankIt1475830 CI214-09 JN606125
16. BankIt1475830 CI218-09 JN606126
17. BankIt1475830 CI230-09 JN606127
18. BankIt1475830 CI247-09 JN606128
19. BankIt1475830 CI261-09 JN606129
20. BankIt1475830 CI266-09 JN606130
21. BankIt1475830 CI268-09 JN606131
22. BankIt1475830 CI269-09 JN606132
23. BankIt1475830 CI271-09 JN606133
24. BankIt1475830 CI275-09 JN606134
25. BankIt1475830 CI102-09 JN606135
26. BankIt1475830 CI109-09 JN606136
27. BankIt1475830 CI168-09 JN606137
28. BankIt1475830 CI184-09 JN606138
29. BankIt1475830 CI196-09 JN606139
30. BankIt1475830 CI208-09 JN606140
31. BankIt1475830 CI228-09 JN606141
32. BankIt1475830 CI288-09 JN606142
33. BankIt1475830 CI291-09 JN606143
34. BankIt1475830 CI302-09 JN606144
35. BankIt1475830 CI316-09 JN606145
36. BankIt1475830 CI320-09 JN606146
37. BankIt1475830 CI322-09 JN606147
38. BankIt1475830 CI323-09 JN606148
39. BankIt1475830 CI331-09 JN606149
40. BankIt1475830 CI335-09 JN606150
41. BankIt1475830 CI337-09 JN606151
42. BankIt1475830 CI338-09 JN606152
43. BankIt1475830 CI343-09 JN606153
44. BankIt1475830 CI344-09 JN606154
45. BankIt1475830 CI346-09 JN606155
46. BankIt1475830 CI16-09 JN606156
47. BankIt1475830 CI258-09 JN606157
48. BankIt1475830 CI293-09 JN606158
49. BankIt1475830 CI336-09 JN606159
50. BankIt1475830 CI127-09 JN606160
51. BankIt1475830 CI210-09 JN606161
52. BankIt1475830 CI347-09 JN606162
53. BankIt1475830 CI285-09 JN606163
54. BankIt1475830 CI5-09 JN606164
55. BankIt1475830 CI44-09 JN606165
56. BankIt1475830 CI181-09 JN606166
57. BankIt1475830 CI259-09 JN606167
58. BankIt1475830 CI260-09 JN606168
59. BankIt1475830 CI273-09 JN606169
60. BankIt1475830 CI251-09 JN606170
61. BankIt1475830 CI141-09 JN606171
62. BankIt1475830 CI152-09 JN606172
63. BankIt1475830 CI163-09 JN606173
64. BankIt1475830 CI232-09 JN606174
65. BankIt1475830 CI279-09 JN606175
66. BankIt1475830 CI248-09 JN606176
67. BankIt1475830 CI286-09 JN606177
68. BankIt1475830 CI303-09 JN606178
69. BankIt1475830 CI617-10 JN606179

70. BankIt1475830 CI572-10 JN606180
71. BankIt1475830 CI490-10 JN606181
72. BankIt1475830 CI474-10 JN606182
73. BankIt1475830 CI470-10 JN606183
74. BankIt1475830 CI460-10 JN606184
75. BankIt1475830 CI454-10 JN606185
76. BankIt1475830 CI444-10 JN606186
77. BankIt1475830 CI437-10 JN606187
78. BankIt1475830 CI386-10 JN606188
79. BankIt1475830 CI632-10 JN606189
80. BankIt1475830 CI631-10 JN606190
81. BankIt1475830 CI583-10 JN606191
82. BankIt1475830 CI573-10 JN606192
83. BankIt1475830 CI569-10 JN606193
84. BankIt1475830 CI568-10 JN606194
85. BankIt1475830 CI563-10 JN606195
86. BankIt1475830 CI561-10 JN606196
87. BankIt1475830 CI559-10 JN606197
88. BankIt1475830 CI556-10 JN606198
89. BankIt1475830 CI552-10 JN606199
90. BankIt1475830 CI551-10 JN606200
91. BankIt1475830 CI548-10 JN606201
92. BankIt1475830 CI544-10 JN606202
93. BankIt1475830 CI543-10 JN606203
94. BankIt1475830 CI532-10 JN606204
95. BankIt1475830 CI531-10 JN606205
96. BankIt1475830 CI525-10 JN606206
97. BankIt1475830 CI524-10 JN606207
98. BankIt1475830 CI515-10 JN606208
99. BankIt1475830 CI508-10 JN606209
100. BankIt1475830 CI443-10 JN606210
101. BankIt1475830 CI431-10 JN606211
102. BankIt1475830 CI424-10 JN606212

103. BankIt1475830 CI423-10 JN606213
104. BankIt1475830 CI411-10 JN606214
105. BankIt1475830 CI407-10 JN606215
106. BankIt1475830 CI402-10 JN606216
107. BankIt1475830 CI401-10 JN606217
108. BankIt1475830 CI645-10 JN606218
109. BankIt1475830 CI643-10 JN606219
110. BankIt1475830 CI642-10 JN606220
111. BankIt1475830 CI641-10 JN606221
112. BankIt1475830 CI638-10 JN606222
113. BankIt1475830 CI611-10 JN606223
114. BankIt1475830 CI604-10 JN606224
115. BankIt1475830 CI603-10 JN606225
116. BankIt1475830 CI597-10 JN606226
117. BankIt1475830 CI596-10 JN606227
118. BankIt1475830 CI592-10 JN606228
119. BankIt1475830 CI585-10 JN606229
120. BankIt1475830 CI364-10 JN606230
121. BankIt1475830 CI636-10 JN606231
122. BankIt1475830 CI299-10 JN606232
123. BankIt1475830 CI540-10 JN606233
124. BankIt1475830 CI539-10 JN606234
125. BankIt1475830 CI538-10 JN606235
126. BankIt1475830 CI533-10 JN606236
127. BankIt1475830 CI530-10 JN606237
128. BankIt1475830 CI529-10 JN606238
129. BankIt1475830 CI528-10 JN606239
130. BankIt1475830 CI523-10 JN606240
131. BankIt1475830 CI522-10 JN606241
132. BankIt1475830 CI476-10 JN606242
133. BankIt1475830 CI475-10 JN606243
134. BankIt1475830 CI464-10 JN606244

TAXONS CITES

Champignons

- 1) *Aspergillus parasiticus* (Speare) (Ascomycètes)
- 2) *Calonectria rigidiuscula* (Berk. et Br.Sacc)(Nectriaceae)
- 3) *Phytophthora* sp.(Oomycètes)

Espèces végétales

- 4) *Adansonia digitata* L., (Malvaceae)
- 5) *Bombax buenopozense* P. Beauv., (Malvaceae)
- 6) *Ceiba pentandra* (L) Gaerth) ; (Malvaceae)
- 7) *Cola chlamydanthra* K. Schum, (Malvaceae)
- 8) *Cola gigantea* var. *glabrescens* Bronnan et Keay ; (Malvaceae)
- 9) *Commelina erecta* (Commelinaceae)
- 10) *Corchorus stridens* L., (Malvaceae)
- 11) *Erythropsis barteri* (mast) Ridley, (Malvaceae)
- 12) *Spondias mombin* (Anarcadiaceae)
- 13) *Sterculia rhinopetala* K. Schum, (Malvaceae)
- 14) *Sterculia trangacantha* Lindle, (Malvaceae)
- 15) *Theobroma cacao* L. (Malvaceae)
- 16) *Xanthosoma sagittaeifolium* (Araceae)

Espèces animales

- 17) *Anagyrus kivuensis* (Encyrtidae)
- 18) *Coccophoctonus abengouroui* (Risbec) (Encyrtidae)
- 19) *Delococcus tafoensis*, (Pseudococcidae)
- 20) *Dysmicoccus breviceps*, (Pseudococcidae)
- 21) *Ferrisia virgata* (Okll) (Pseudococcidae)
- 22) *Leptomastix longipennis* (Mercet) (Pseudococcidae)
- 23) *Paraputo anomalou*, (Pseudococcidae)
- 24) *Phenacoccus magrevsi*, (Pseudococcidae)
- 25) *Formicococcus citri* (Risso) (Pseudococcidae)
- 26) *F. kenya* (Le Pelley), (Pseudococcidae)
- 27) *F. njalensis* (Laing), (Pseudococcidae)
- 28) *F. concavocerrari* (James), (Pseudococcidae)
- 29) *F. congispinus* (Pseudococcidae)
- 30) *F. hargreavesi* (Laing) (Pseudococcidae)
- 31) *F. logispinus* (Targioni) (Pseudococcidae)
- 32) *F. pukobensis* (Laing), (Pseudococcidae)
- 33) *F. sp. celtis* (Pseudococcidae)

Résumé

Cette étude a été effectuée dans le but de caractériser la diversité moléculaire du CSSV (*Cacao swollen shoot disease*) et les aspects épidémiologiques de la maladie du swollen shoot du cacaoyer en Côte d'Ivoire. L'approche méthodologique a consisté à collecter des échantillons de feuilles de cacaoyers infectés par le CSSV dans la cacaoyère ivoirienne. L'ADN total a été extrait des échantillons collectés et le CSSV y a été recherché par un diagnostic PCR avec des amorces spécifiques issues de l'ORF3 du génome du CSSV. L'ADN viral détecté a été séquencé et une analyse phylogénétique a été effectuée. En plus, seize essais épidémiologiques ont été installés dans des foyers de la maladie en milieu paysan et des données relatives aux symptômes, aux dégâts et à l'influence de la maladie sur la production et la qualité des fèves ont été collectées à intervalle régulier suivies d'une analyse statistique. Les résultats ont montré que la détection du CSSV par PCR a été améliorée avec les amorces ORF3A F/R ayant permis la détection du virus dans 90% des parcelles échantillonnées. Les analyses phylogénétiques ont mis en évidence quatre groupes majeurs d'isolats de CSSV (B, D, E et F) dont trois nouveaux (D, E, et F) distincts des groupes A, B et C déjà connus. Aucun isolat des groupes A et C n'a été identifié. Les groupes du CSSV ont été inégalement repartis dans les régions échantillonnées à part le groupe B qui a été le plus ubiquiste. Les manifestations de la maladie au champ ont différées d'une localité à l'autre et que seuls, les symptômes de bandes rouges sur les jeunes feuilles ont été les plus constants. Les pertes de production de cacao ont été estimées et une réduction de paramètres de production a été mise en évidence sur les cacaoyers proches du foyer. La situation du swollen shoot en Côte d'Ivoire nécessite des mesures transitoires de lutte en attendant la sélection de variétés de cacaoyers résistants.

Mots clés : Maladie du swollen shoot du cacaoyer, CSSV, Biodiversité moléculaire, épidémiologie, Côte d'Ivoire

Summary

This study was conducted to characterize molecular diversity of CSSV (*Cacao swollen shoot disease*) and epidemiological aspects of cocoa swollen shoot disease (CSSVD) in Côte d'Ivoire. The methodological approach involved collecting cocoa leaf samples infected by CSSV in main outbreaks of the disease. Total DNA was extracted from samples collected and PCR diagnostic for CSSV have been performed by using specific primers in first part of the ORF3 of CSSV genome. PCR products detected were sequenced and phylogenetic analysis was performed with the presence of sequences control. In addition, sixteen epidemiological trials have been installed in outbreaks of the swollen shoot disease in farmer's plots and data about symptoms, damage and influence of the disease on cocoa production and quality of beans were collected in regular intervals followed by a statistical analysis. The results showed that detection of CSSV by PCR has been improved with the primers ORF3A F/R which has allowed detection of the virus in 90% of the sampled plots. Phylogenetic analyzes revealed four groups of CSSV isolates (B, D, E and F) including three new groups (D, E, and F) different of groups A, B and C previously identified. No isolate of groups A and C was identified through the samples analyzed. Phylogenetic CSSV groups identified were not uniformly distributed in the infected regions except isolates of group B, the most ubiquitous. Epidemiological aspects of the disease in field were different from one locality to another and only foliar symptoms of red veins banding on young cocoa leaves were the most constant. Loss of production has been estimated and a reduction on cocoa production parameters has been highlighted on trees closer to the centre of outbreak. This study showed that the status of the cocoa swollen shoot disease in Côte d'Ivoire is alarming and requires immediate transitional measures of control until selection of cocoa varieties resistant to CSSV.

Keywords: cocoa swollen shoot disease, CSSV, molecular biodiversity, epidemiology, Côte d'Ivoire